

III JORNADAS UNIVERSITARIAS SOBRE EL JEREZ

21 al 25 de Mayo, 1984



SERVICIO DE PUBLICACIONES
UNIVERSIDAD DE CADIZ

CADIZ, 1985



663.2 : 061.3

70R

R- 3.0292

Departamento de Química Técnica
Facultad de Ciencias

III JORNADAS UNIVERSITARIAS SOBRE EL JEREZ

21 al 25 de Mayo, 1984



SERVICIO DE PUBLICACIONES
UNIVERSIDAD DE CADIZ

CADIZ, 1985

ISBN 84-600-4052-6
D.L. CA-800/85

Jiménez-Mena. Artes Gráficas. Editorial.
Pol. Ind. Zona Franca C/. La Línea de la Concepción. Cádiz.

ENTIDADES COLABORADORAS:

Servicio de Publicaciones de la Universidad de Cádiz.

Consejo Regulador de las Denominaciones de Origen
Jerez-Xérès-Sherry y Manzanilla de Sanlúcar de Barrameda.

Grupo de Exportadores de Jerez.

Junta de Andalucía.

Caja de Ahorros de Cádiz.

Waters Española, S.A.

INDICE DE MATERIAS

	<u>Pag.</u>
Presentación de las Jornadas	
VICENTE FLORES LUQUE	7
Aspectos generales de la microbiología en el vino de Jerez.	
BALDOMERO IÑIGO LEAL	11
Comportamiento de variedades de uva de mesa en la zona del Jerez.	
GARCIA DE LUJAN,A.;MORALES GODINES,M.;BUSTILLO BARROSO,J.M. y GIL MONREAL,M.	24
La madera rizada de la vid un síndrome de carácter virotico con incidencia económica en la viticultura.	
PADILLA VILLALBA,V. y MARTINEZ CUTILLAS,A.	38
Extracción y estudio del aceite de semilla de uva Palomino.	
GALAN VALLEJO,M.;MARTINEZ MASSANET;G.;MONTIEL TOSSO,J.A.; PANDO RAMOS,E. y RODRIGUEZ LUIS,F.	43
Contenido catiónico del jugo de uva (Vitis vinífera, "Pedro Ximenez") en relación con la distribución geográfica del Mar_ co Montilla-Moriles.	
MEDINA CARNICER,M.;MORENO VIGARA,J.;GONZALEZ FERNANDEZ,J.L. y MERIDA GARCIA,J.	59
Características de nuevas variedades de vid obtenidas por hi_ bridación.	
GARCIA DE LUJAN,A.;MORALEZ GODINEZ,M;GARRIDO QUIJANO,A. y LARA BENITEZ,M.	70
Maduración industrial de la uva en el Marco del Jerez.Campa_ ñas de 1982 y 1983.	
MARTINEZ DE LA OSSA FERNANDEZ,E.;VALCARCEL MUÑOZ,M.J.;GIL DE REBOLEÑO INSUA,R. y PEREZ RODRIGUEZ,L.	87
Aislamiento de un sistema oxidativo del indol en hojas de Vitis vinífera L.	
CATALINA,L.;SARMIENTO,R;MAZUELO,C. y ROMERO,R.	99

Estudio de la fertilización diferenciada en la vid. Evolución de azúcares, ácidos orgánicos y fracciones nitrogenadas en hojas.	
CATALINA, L.; MAZUELO, C.; SARMIENTO, R.; ROMERO, R. y VALPUESTA, V..	108
Comparación del comportamiento reológico y volumen específico de mostos concentrados de uva frente a disoluciones acuosas de glucosa y fructosa.	
GALAN VALLEJO, M.; ANDRADE BALAO, J.A. y LOPEZ TORRES, M.A.	121
Estudio del contenido en lípidos totales, neutros y polares en uvas "Macabeo" (Vitis vinífera) en el curso de su ciclo vegetativo.	
CASTELA MOGOLLON, P.M.; MESIAS IGLESIAS, J.L. y MAYNAR MARÑO, J.	130
Evolución de aminoácidos en el curso de la maduración de uvas Vitis vinífera.	
MIGUEL GORDILLO, C.; MAYNAR MARIÑO, J.I. y MESIAS IGLESIAS, J.L.	144
Compuestos no volátiles en vinos de Jerez: Polialcoholes, azúcares y compuestos fenólicos.	
ESTRELLA, I.; OLANO, A. y HERNANDEZ, T.	156
Contribución al estudio de la alcohol deshidrogenasa de uva.	
HERNAO DAVILA, F.; GONZALEZ CABANILLAS, S. y MESIAS IGLESIAS, J.	177
Estudio del factor matador de las levaduras vínicas.	
CASAS ASIN, J.A.	188
Determinación automatizada del índice de polifenoles totales mediante análisis por inyección en flujo (FIA).	
BUITRAGO, J.; CELA, R.; MILLA, M. y PEREZ-BUSTAMANTE, J.A.	194
Separación de ácidos y aldehídos fenólicos del vino mediante cromatografía de permeación de gel.	
OTERO, J.C.; CELA, R.; GARCIA BARROSO, C. y PEREZ-BUSTAMANTE, J.A.	214
Estudio de la extracción líquido-líquido de los ácidos fenólicos del vino.	
GUILLEN SANCHEZ, D.A.; CELA TORRIJOS, R.; GARCIA BARROSO, C y PEREZ-BUSTAMANTE MONASTERIO, J.A.	233

Evolución de los ácidos fenólicos a lo largo del proceso de elaboración del vino fino de Jerez.	
GARCIA BARROSO,C.;CELA TORRIJOS,R. y PEREZ-BUSTAMANTE MONASTERIO.J.A.	256
Soluciones a la problemática de vertidos de vinazas.	
VALCARCEL MUÑOZ,M.J.;PEREZ RODRIGUEZ,L. y SALES MARQUEZ,D. .	278
Control del volumen de llenado en vinos y brandies de Jerez.	
ASENCIO RODRIGUEZ,A. y DOMEQ WILLIAMS,B.	291
La correzione dell'acidita dei vini.	
USSEGLIO-TOMASSET,L.	304
Evoluzione delle conoscenze sulla clorosi ferrica della vite	
FREGONI,M. e BAVARESCO,L.	312
Descripción resumida de la técnica enológica de los vinos de Jerez.	
JUSTO F. CASAS LUCAS	333

PRESENTACION DE LAS III JORNADAS UNIVERSITARIAS SOBRE EL JEREZ

Vicente Flores Luque

Una vez más, y ésta es la tercera, estamos en la línea de salida esperando la señal para iniciar las Jornadas Universitarias sobre "EL JEREZ". Sin lugar a dudas es éste un nuevo acto de aproximación entre dos sectores, el científico y el industrial, o mejor la conjunción entre el mundo científico y su entorno humano para tratar un tema de gran importancia económica y científica, "EL JEREZ".

Quiero recordar que en la clausura de las Jornadas correspondientes al año 80, organizadas por un deseo de acercamiento de la Universidad hacia la sociedad, se destacó fundamentalmente la perfecta convivencia que se había producido, durante varios días, entre profesionales universitarios de muy distinta formación. Ello se continuó en las Jornadas del 82 y espero que se repita en éstas. Se han convertido así estas Jornadas en un polo de atracción no sólo de químicos, sino también de biólogos, farmacéuticos, economistas, agrónomos, que, con formación y opiniones muy dispares, abordan el tema de "EL JEREZ" desde ópticas muy distintas. Sin embargo, esta conjunción no se da aisladamente en estos días de las Jornadas, pienso que la misma se prolonga en el tiempo y sirve de nexo o unión de unas Jornadas con otras, convirtiéndose así en un intercambio constante y fecundo de ideas y de problemas.

De todas formas, y como aquí no cabe adoptar posturas que no sean conocidas por la mayoría de los presentes, al considerarme bastante profano en cuanto se refiere al conocimiento científico de "EL JEREZ", habré de enfocar la presentación de estas Jornadas desde un punto de vista que para mí tiene una gran importancia, y no es otro que la vinculación de las mismas con su entorno social, hecho que, en mi opinión, enaltece a esta zona.

La Ley de Reforma Universitaria, en su preámbulo, establece la idea de que la Universidad constituye un auténtico servicio público referido a los intereses generales de toda la comunidad nacional y de sus respectivas Comunidades Autónomas. Asimismo, en su artículo 1º, en el apartado 2a, se recogen como funciones de la Universidad la creación,

desarrollo, transmisión y crítica de la ciencia, de la técnica y de la cultura; y en el apartado 2c recoge también como funciones el apoyo científico y técnico al desarrollo cultural, social y económico tanto nacional como de las Comunidades Autónomas. Pues bien, estas funciones se están cumpliendo en esta Facultad de Ciencias desde su inicio, y es más, referido al tema concreto del "EL JEREZ" desde que se organizaron las Jornadas Universitarias de 1980, tales funciones quedaron concretadas sin necesidad de que las mismas viniesen impuestas por ningún tipo de Ley.

Ahora bien, la entrega de esta Facultad, y más concretamente del Departamento de Química Técnica, como organizador de las Jornadas, ha tenido la adecuada respuesta en la corriente de entrega de la sociedad hacia la facultad.

No es fácil encontrar un sector industrial que, en un plazo de tiempo tan breve como el que se ha producido en este caso, acepte plenamente la presencia del mundo universitario. Creo que en estos momentos la facultad de Ciencias y este sector industrial son dos mundos que se necesitan mutuamente.

Estas Jornadas Universitarias sobre "EL JEREZ" están enfocadas fundamentalmente a potenciar la investigación en los campos de la viticultura y la enología y a estudiar sus repercusiones económicas. Sin embargo, resulta que cuando se habla de investigación aparece de inmediato en la mente de casi todas las personas vinculadas a la misma una división en pura y aplicada, aunque para algún colega la división que debe hacerse es en "Investigación académica" e "Investigación utilitaria", términos que creo reflejan mejor la situación planteada en nuestro caso.

A partir de esa división cabe hacerse la siguiente pregunta: ¿Son los resultados de la investigación académica asimilables con provecho por un determinado sector industrial, y pueden las inquietudes industriales traducirse en una investigación académica?

Generalmente, esta es una pregunta que para el investigador universitario, para el realizador de la "investigación académica" no suele tener respuesta. El investigador da a conocer sus resultados, pero en muy pocas ocasiones, a veces ninguna, llega a conocer el aprovechamiento y utilización de los mismos.

Sin embargo, si existe un planteamiento adecuado de los fines

que se persiguen,aún cuando los medios materiales disponibles no sean los adecuados,o los idóneos,se consiguen objetivos y fines que pueden llegar a romper la inercia del sector industrial correspondiente y se puede llegar de esta forma al establecimiento de un sistema abierto, con un flujo de alimentación de ideas fácilmente transformables en fines u objetivos y un flujo de salida de resultados útiles.

De esta forma el "investigador académico" llega a saber de donde ha de partir y a donde ha de llegar,puede realizar un autoanálisis de su postura y de sus posibilidades,y someterse a las críticas correspondientes.

Los grupos participantes en estas Jornadas,procedentes de la Universidad,de los Centros de Investigación o de la industria están realizando en el caso que nos ocupa una investigación que se puede calificar como utilitaria,pero aceptada tanto por los industriales como por los universitarios con fines,en muchos casos,académicos,pues la mayoría de los universitarios participantes traducen toda o parte de esta investigación en Tesinas de Licenciatura,Tesis Doctorales y formación de "curricula".

El hecho favorable que se da en estas Jornadas,es que en ellas los industriales,a través de sus comunicaciones,dejan entrever sus problemas y necesidades;estas ideas son aceptadas,a veces rápidamente,por los universitarios y transformadas en fines u objetivos de futuras investigaciones.

Así pues,en estas Jornadas se produce la confluencia de dos mundos aparentemente muy distintos,tanto en su forma de trabajar como de pensar,el de la creación científica y el de la rentabilidad o beneficio empresarial,aunque ambos obsesionados con una idea que es la de mejorar el sector industrial de "EL JEREZ".

El industrial por su parte debe apreciar el origen y la necesidad de la investigación,en tanto que el investigador debe reconocer que en el planteamiento de sus problemas no debe eludir algo tan sencillo y a la vez tan significativo como que para el industrial lo fundamental es el negocio,la producción,la renta que obtenga de sus inversiones,y por ahí es por donde el investigador debe enfocar sus fines y objetivos y realizar el programa de investigación adecuado.

Traducción fiel de este entendimiento y de esta participación son los siguientes datos tomados de las II Jornadas,las celebra-

das en 1982:

Participantes procedentes de la industria	50 %
Participantes procedentes de organismos oficiales	20 %
Participantes de la Universidad	30 %
Comunicaciones presentadas por la industria	33 %
Comunicaciones presentadas por organismos oficiales . . .	33 %
Comunicaciones presentadas por la Universidad	33 %

Entramos pues en las III Jornadas con el pensamiento puesto en algunas consideraciones fundamentales que se están sedimentando y consolidando con el paso del tiempo y que en un futuro próximo tal vez podamos convertirlas en conclusiones:

- 1ª. Existe un entendimiento claro entre la industria, los organismos oficiales y la Universidad en este marco de "EL JEREZ".
- 2ª. Existe un convencimiento por parte de la comunidad universitaria de que ha de servir y apoyar el desarrollo científico social y económico de su entorno, poniendo a disposición de la sociedad sus medios materiales y humanos.
- 3ª. Existe una aceptación por parte del sector industrial de "EL JEREZ" de una realidad indiscutible como es la Facultad de Ciencias, en la que ha encontrado una tribuna adecuada para la expresión de sus inquietudes científicas y económicas.

En nombre del Comité Organizador de estas Jornadas, del que me honro en formar parte, solo me resta agradecer la presencia de todos en este primer acto y desearles una estancia y unos días de trabajo que sean lo más grato y fructífero posible.

Gracias también a los que con su colaboración han hecho posible estas Jornadas.

Estamos pues ante las III Jornadas Universitarias sobre "EL JEREZ" y para terminar voy a traer a colación unas palabras del "maestro Díaz-Cañabate", llamado maestro por los taurinos, y que reflejan la importancia del tema que vamos a tratar y el respeto con que todos tratamos el tema. Dicen así:

"Bebo el Jerez y saboreo su esquisitez. Le respeto y le admiro.....pero de lejos, como a los grandes hombres, que es como mejor se respeta y se admira".

ASPECTOS GENERALES DE LA MICROBIOLOGIA EN EL VINO DE JEREZ

Prof. Baldomero Iñigo Leal

Instituto de Fermentaciones Industriales (C.S.I.C.)

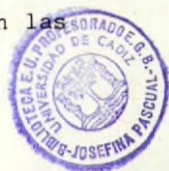
Es este para mi, un momento de emocionados recuerdos; hace cuatro años y en circunstancias muy diferentes comenzaban en esta misma sede, de la joven y pujante Facultad de Ciencias de la Universidad gaditana, las I Jornadas Universitarias sobre el Jerez, que si bien recuerdo no fueron adjetivadas como tal por la posibilidad de no tener continuidad; no fue así, afortunadamente y nuevamente hoy, circunstancias de un orden dimanado del azar más que de otra particularidad meritoria me permiten agradecer a los organizadores de esta tercera edición, mi presencia en este acto de la conferencia inaugural.

Mis primeras palabras han de servir pues para subrayar el propio agradecimiento a tan generosa actitud, a la vez que para manifestar la satisfacción por coincidir con las Jornadas de la Academia de la Vid y del Vino de Siena, a la que me honro pertenecer desde hace varios lustros; desde aquí, por tanto, quiero expresar a los entrañables amigos italianos hoy en Madrid mi sentido deseo de completo éxito.

Volver a esta luminosa tierra jerezana, que origina uno de los más famosos vinos del planeta, para continuar hablando de su "ciencia" (entre comillas), constituye para mi una aventura tan sobrecogedora, como podría ser para un modesto historiador presentarse en el Escorial para discurrir sobre el reinado de Felipe II.

Antes de adentrarnos en la trama natural del vino para exponer algo de lo que en los últimos años venimos aprendiendo de su biología y particularmente de la microbiología del vino de Jerez, me voy a tomar la libertad de expresar algunas íntimas consideraciones que tan de lleno creo que afectan a la relación personal entre los que hacen investigación científico-técnica del vino y los técnicos que aplican sus resultados, bien para elaborarlo, bien para ponerlo a disposición del consumo en óptimas condiciones.

También en el sector del vino creo que persisten las interrogantes planteadas en otros sectores productivos entre el científico que origina y el tecnólogo que aplica, y que podemos resumir en las



siguientes preguntas:

- ¿Coinciden los objetivos del investigador con los del técnico enológico?.
- ¿Se orienta la técnica científica a la mejora de la calidad enológica del vino, o sólo a preservar una cada vez más uniforme calidad tecnológica ya conseguida?. En aquellos casos en que esta mejora se logra ¿Se realiza sólo en un ámbito local o se intenta ampliar al ámbito nacional?.
- ¿Se están utilizando los resultados de la investigación científica en la expansión de la cultura del vino?.
- El enotécnico, ¿Ha manifestado su preocupación por el efecto social negativo que un vino tecnológico uniforme puede llegar a provocar?. Fenómeno que comienza a ser percibido como una retracción del consumo en países tradicionalmente productores y educados en un buen uso de esta bebida?.

A todas y cada una de estas preguntas me parece que habrá de darse, con los hechos, justa y adecuada respuesta y también creo que alguna de ella se encuentra en marcha hacia un despertar de "conciencia ecológica", concretizada en más sensibilidad y exigencia al fenómeno de la calidad; avalan tal realidad la existencia progresiva de más asociaciones de amigos del vino, proclamando la defensa de su pureza, trabajando por la expansión de su más genuina esencia a fin de que cada vez más el hombre lo conozca mejor y aprenda de nuevo a respetarlo y a beberlo.

Otra cuestión que me gustaría no dejar de tocar, aún de pasada, es la llamada "evaluación de la tecnología" derivada de una adecuada investigación enológica, en el sentido de que esta no suponga sólo y exclusivamente una valoración del logro en sí mismo, sino que incluya los efectos positivos o negativos que tengan en el consumo. No es fácil sin embargo calibrar los intereses a veces contradictorios de los grupos afectados que lógicamente la juzgarán con diferente criterio; de todas formas, nos hallamos en un sector de tecnología convencional sin efectos llamativos; a lo más que trasciende es una innovación que afecta a la calidad de vida, a una forma más o menos placentera de vivir. Nos hallamos más bien tras el arte de la tecnología. No obstante, la importancia de estas cuestiones aparentemente triviales va adquiriendo cada día más significado de cara a la evolución de la sociedad futura

con superior desarrollo y menos empleo a la que habrá de ir dotándose con mayores posibilidades adaptativas a un ambiente de "ocio económico y más culto". No sería vanal pues el intento de alumbrar vinos cada vez más atractivos, higiénicos y diferenciados, simplemente mimetizando la propia ontogenia o historia natural de tan singular bebida.

Relacionada con esta misma cuestión y con una fuerte carga sugestiva y cultural, resulta la de que el vino, en buen porcentaje, permite al intelecto humano una elección personal entre una variada gama de productos diferentes; cada prototipo de vino: blanco, afrutado, de aguja, fino oloroso, seco, dulce, tinto, clarete, espumoso, joven, más o menos viejo, tiene sus devotos, por cuya razón este producto ocupa una posición preeminente en la Gastronomía. Por otra parte, un hecho altamente significativo viene ocurriendo los últimos años en países máximos productores y tradicionalmente más bebedores, presiste una clara tendencia a la baja del consumo de vinos corrientes y un inicio de alza esperanzadora en los vinos de mayor calidad, lo cual viene en apoyo de la tesis que venimos sosteniendo hace años: intensificar el esfuerzo investigador en los temas biológicos y bioquímicos del vino, de donde pueden surgir datos explicativos de la calidad y en consecuencia las orientaciones para innovar o implantar nuevas tecnologías conducentes al vino ecológico-científico que responda a las peculiaridades de su origen telúrico.

La realidad físico-química de la vinificación tan ampliamente investigada en los últimos decenios por los científicos enólogos, creemos que debe ser igualmente ampliada y profundizada a su realidad microbiológica, enfocada desde la perspectiva de la ecología y la evolución, contemplando las especies microbianas participantes y sus interacciones como fenómeno prevalente y preferencial; en tal sentido el objetivo a conseguir sería la explicación del prototipo de vino que originan y en el camino hallar, tal vez, la respuesta a una pregunta clave que aún la ciencia enológica no ha dado:

El vino, ¿evoluciona? (entiéndase en sentido ecológico).

Yo pienso que sin una visión conceptual amplia de la física, la química y la biología del vino, difícilmente vamos a comprenderle en toda su magnitud y transcendencia; no olvidemos que el vino es un mensaje de la tierra dirigido al corazón y a la mente del ser humano; que se inicia en un proyecto geo-botánico muy cerca de la misma roca

madre ,que se concreta en el arbol de la vid y su dulce fruto,que continúa en un proyecto microbiológico sobre el mosto de la uva y que termina,hecho vino,al ser consumido en proyecto fisiológico en el corazón del hombre donde engendra alegría de su espíritu.

Después de este fugaz extravío por el laberinto metafísico del vino,me vais a permitir seguidamente unas pinceladas históricas sobre microbiología enológica y las técnicas de vinificación.

La Enología nace prácticamente en los primeros descubrimientos del mundo microbiano,mérito que acapara el holandés Antonio van Leeuwenhoeck,quien con un microscopio rudimentario,construido por el mismo,observa a mediados del siglo XVII los microorganismos del mosto de la uva en fermentación y reconoce la naturaleza organizada de los mismos;no llega a más y todo queda en ese punto.Han de transcurrir casi dos siglos (1826) para que Desmazieres,con mejor técnica microscópica confirme el silenciado descubrimiento del holandés.Con la publicación de su estudio microscópico induce a otros coetaneos a trabajar sobre el tema;entre ellos a Cagnard-Latour y Schwann,quienes demuestran que la causa de la fermentación del mosto de uva estaba ligada al desarrollo de las levaduras.Así estaban las cosas cuando aborda el tema Louis Pasteur,que en cuatro años de intensa labor desentraña una serie de problemas biológicos transcendentales en aquel entonces,entorno a las transformaciones de la materia orgánica procedente del mundo vivo.Descubre la fermentación alcohólica y láctica,demuestra con experiencias de genial sencillez la correlación estructura/función, en este caso concreto estructura microbiana/función bioquímica,que desde entonces se plantea como tesis inicial prácticamente en todos los trabajos posteriores de la ciencia biológica.Pasteur llega por primera vez a la obtención de cultivos de levaduras diferentes,establece el origen y ciclo de algunas de estas en la naturaleza,precisando su inexistencia sobre la superficie de las uvas verdes y su asentamiento cuando están maduras,adheridas a través de la pruina.También esclarece la naturaleza bacterina de algunas alteraciones del vino.

Después de estas revelantes aportaciones de Pasteur,otros autores siguiendo las sugerencias que él hace,profundizan en el conocimiento de las levaduras como grupo autónomo taxonómicamente estable;sobresalen en este periodo tres personalidades científicas:el danés Hansen que establece los fundamentos de la taxonomía de las levaduras,

fija técnicas en el aislamiento y la determinación de caracteres morfológicos y fisiológicos, criterios taxonómicos y sistemáticos de clasificación. Describe varias especies responsables de procesos fermentativos, entre ellos y muy particularmente el cervecero; otra figura, la del francés Guillermond, conocido como el iniciador de la citología de organismos unicelulares en estados de vida libre. Describe admirablemente la estructura interna de la célula, para los limitados medios disponibles; publica en 1912 un libro sobre levaduras, verdadera joya en la especialidad; en él se propone un primer esquema filogénico del grupo, curiosamente correcto en el orden pero invertido en el sentido de la dirección evolutiva; finalmente descuella en este periodo otro danés, Winge, en el campo de la genética de levaduras.

Y en el tema de las levaduras del vino ¿cómo se desarrollan los acontecimientos?. Los autores al principio mencionados, a través de estudios microscópicos, ven que en la fase inicial de la fermentación espontánea de un mosto de uva predominan unas células en forma de limón, levaduras apiculadas o como otros llamaron sacaromicetos apiculados; a medida que el proceso avanza, las formas apiculadas pierden el predominio y aparecen en el medio otras células de forma globosa, a veces de forma alargadas, y finalmente otras de forma elíptica, que al consumir todos los azúcares del medio, floculan y se depositan. Se afirmó entonces que la fermentación del mosto de uva se inicia por la acción vital del *Pseudosaccharomyces apiculatus* y termina con la de otra: el *Saccharomyces ellipsoideus*.

Más que estudio taxonómico, a los microbiólogos del vino de aquella época, interesó la funcionalidad de las levaduras vínicas, es decir la transformaciones bioquímicas que realizaban al desarrollarse en el mosto de la uva y más concretamente todavía, los productos finales que originaban y quedaban acumulados en el vino, determinando su carácter. Se vió que la levadura apiculada produce escasa cantidad de alcohol y notable proporción de volátiles secundarios, dejando intransformado mucho azúcar; y que la levadura elíptica, contrariamente, rinde más alcohol y menos secundarios. Resulta una práctica muy demostrativa que hacemos repertir a todos los que se inician en el conocimiento enológico.

De tales observaciones surgieron las decisivas experiencias de Müller-Thurgau que pone a fermentar un mismo mosto estéril con sólo

levadura elíptica y aparte con una mezcla de elíptica y apiculada. Comprobando en los fermentados resultantes la acción depresiva de la levadura apiculada sobre la elíptica, proponiendo en consecuencia el alejamiento de la primera especie del proceso fermentativo; se vislumbra el concepto de la fermentación pura; con la ejecución de ésta surge el vino tecnológico. Esta técnica unida al uso más racional del anhídrido sulfuroso que ya se venía aplicando empíricamente, perfilan el moderno sistema de vinificación.

Los primeros resultados fueron muy alentadores en la práctica, pero a la larga creemos que han sido perniciosos en un aspecto y por una sencilla razón: el de haber limitado la investigación enológica por haberse considerado la molécula de SO_2 como una panacea.

En tales circunstancias, el clima no era propicio al desarrollo de la Enología como ciencia; a pesar de ello, en Perugia (Italia) y gracias a la admirable tenacidad de Gino de Rossi, discípulo de Roux, y su inmediato colaborador Castelli, se inicia un pugilato o carrera de la microbiología enológica. Se proponen para explicar el vino hacer más y más microbiología de cada uno de los tipos elaborados en las distintas comarcas productoras de Italia: a más empirismo enotécnico, hay que responder con más investigación microbiológica, bioquímica y biofísica. Este pensamiento dialéctico sigue siendo válido y estoy plenamente convencido de que si le guardamos fidelidad, permitirá esclarecer y en consecuencia resolver, los nuevos problemas que con las producciones masificadas cada vendimia se nos plantean.

Algunos de ellos fueron considerados en un coloquio enológico que tuvimos en esta misma capital por el año 1974 ó 75, al que presentamos una ponencia bajo el título: "Problemas microbiológicos en el desarrollo enotécnico".

El trabajo de Gino de Rossi y Castelli, iniciado en la vendimia de 1933, sobre mostos de la Umbria, representa el punto de arranque de la moderna microbiología enológica. En él se establecen las directrices y técnicas a seguir en la toma de muestras, momento en que han de realizarse los bancos de diluciones para el aislamiento, a fin de que en la colección de cultivos puros obtenidos estén representadas todas y cada una de las especies de levaduras participantes en el curso completo de la vinificación espontánea del mosto. Asimismo se establecen los criterios taxonómicos y la sistemática aplicable a la cla-

sificación de cepas aisladas y estudio de sus caracteres técnicos.

En este trabajo se ponen en evidencia varios hechos importantes:

- a. Que en la fermentación espontánea del mosto de uva se perfilan dos etapas biológicamente diferenciadas, una fermentativa y otra aerobia.
- b. Que en la etapa fermentativa participan más de dos especies y que lo hacen escalonadamente, sucediéndose en tres periodos o fases, una primera en la que además de la *Kloeckera apiculata* encuentran una nueva especie *Kloeckera magna*. En una segunda fase, aparecen otras especies de forma esférica y tamaño mediano, que ya Martinand en estudios microscópicos había observado en mostos de la región del Mosela, referidas con el nombre genérico de "torulas", aisladas y clasificadas por los autores italianos como *Torulaspora rosei*. Finalmente, en la tercera fase fermentativa encuentran que el *Saccharomyces ellipsoideus* tampoco actuaba en solitario sino que lo hace acompañado de otras especies de *Saccharomyces*.
- c. Que en la etapa aerobia aparecen velos blastomicéticos sobre el vino una vez terminada la fermentación, constan de varias especies de levaduras que aíslan y clasifican en el género *Micoderma* (hoy *Candida*); entre ellas el *M. vini*, *M. tenax* y *M. duplex*. En estos velos los italianos nunca encuentran *Saccharomyces*.

Es precisamente unos años más tarde (1935), cuando Marcilla, Alas y Feduchy demuestran que sobre vinos de la zona vitivinícola de Montilla crece aerobicamente una especie esporulada perteneciente al género *Saccharomyces* que describen como *S. beticus*, nueva especie de fisiología completamente distinta a las anteriormente descritas del género *Micoderma*, que eran especies aerobias, respiratorias estrictas. Con este trabajo fundamental del Prof. Marcilla nuestro país se incorpora a la tarea investigadora europea de la microbiología enológica.

En años posteriores, durante la década de los cuarentas, el Prof. Castelli y sus discípulos Capriotti, Cantarelli, Giovannozzi, etc.. en la escuela umbra y otros colaboradores (Verona, Malan, Florenzano) en otras universidades, estudian prácticamente todas las regiones vitivinícolas de Italia e Israel.

Exactamente en el año 1954, nosotros mismos nos incorporamos a la tarea de la escuela italiana y comenzamos, dirigidos por el propio Prof. Castelli, el estudio microbiológico de la zona de la Mancha.

En años sucesivos, este grupo de trabajo del Instituto de Fermentaciones Industriales, ampliado gradualmente con nuevo personal científico (Arroyo, Bravo, Ripio, Somavilla, Kayyat.....) realiza una labor amplia y exhaustiva sobre todas y cada una de las regiones vitivinícolas españolas con denominación de Origen (20 zonas). Los resultados obtenidos son a grandes rasgos los siguientes:

- En cada zona queda establecido un esquema ecológico de levaduras fermentativas y aerobias.
- Se estudia después el efecto que distintos factores técnicos pueden producir en la biología del proceso natural: presencia de SO_2 , altas temperaturas, grandes masas, alcoholizado, etc....
- Reflexionando sobre todos este conjunto de resultados, hemos llegado al siguiente pensamiento biológico susceptible de ser generalizado: todo mosto de uva en su fermentación espontánea hasta transformarse en vino, lo hace a través de una rica diversidad de formas microbianas; son especies de levaduras que se suceden en la fermentación vinica en un orden dado y con una precisión matemática. Hay tres estadios o fases perfectamente diferenciadas biológicamente en la etapa fermentativa y una clara etapa aeróbica al término de la fermentación. En ellas, en cada fase, intervienen especies de levaduras con marcadas diferencias fisiológicas. Unas representan modelos fermentativos homoalcohólicos, otros heteroalcohólicos e incluso otras modelos metabólicos respiratorios estrictos.

Enológico se piensa que unas pueden ser consideradas especies nobles, aptas para llevar a cabo las fermentaciones y otras inapropiadas para tal fin. Esta es una cuestión sobre la que hace falta insistir todavía mucho con investigaciones de mayor alcance.

Esta realidad se repite sistemáticamente en los mostos de cada zona, con las lógicas diferencias ecológicas, a veces muy significativas en el sentido filogénico, e impresionantes en sentido evolutivo.

Esta sucesión puede muy bien ser la resultante de un proceso cibernético que, partiendo del microorganismo, se rija por leyes fundamentadas en bases científicas hoy desconocidas todavía en su compleja, o tal vez simple, totalidad. En algunos casos concretos sí son conocidas: Regulan mecanismos de acción inter-especies, por ejemplo modificando el potencial redox (acción de especies de *Saccharomyces* sobre especies de *Zigosaccharomyces* y *Torulaspora* asentadas poblacionalmente en fase

haploide);el efecto antiséptico del propio etanol acumulado en el medio por especies alcoholígenas de segunda y tercera fase, inhiben especies de los géneros *Kloeckera*, *Hanseniaspora* y *Candida*.

En otros casos, los mecanismos de acción inter-especies se basan en efectos nutricionales, eliminación del medio de un determinado factor de crecimiento más rápidamente consumido por una de las especies presentes como pudimos poner de manifiesto entre *Candida pulcherrima* frente a *Saccharomyces ellipsoideus*, etc....

Finalmente, y por no citar más casos en que estos mecanismos están descubiertos, citaremos el efecto letal del llamado "factor mata-dor" descubierto más recientemente en varios géneros de levaduras, producido por sustancias concretas cuya naturaleza química molecular comienza a ser conocida, y que nuestro grupo de trabajo estudia en especies vnicas del género *Saccharomyces* en sus aspectos ecológicos y evolutivos sobre poblaciones taxonómicamente homogéneas en procesos industriales. También A. Casas y J. Conde en la Universidad de Sevilla han realizado importantes aportaciones al tema.

El poner de manifiesto otros mecanismos constituye para nuestro grupo de trabajo, en el momento actual, la noción central en la biología del vino, que habremos de enriquecer y precisar en los próximos años; ya que en lo esencialmente histórico el proceso microbiológico vínico lo hemos captado en la mayoría de nuestras zonas vitivinícolas y sobre todo creo que está comprendido para ser aplicadas con eficacia sus consecuencias técnicas. Es más, una de las inmediatas aspiraciones de más sutil interés aplicado, con interesante repercusión higiénica, derivará posiblemente del estudio antes aludido. La estrategia biológica establecida para fermentar un mosto podría dar solución definitiva, de forma natural, al problema aún latente del aditivo químico. Hoy la solución dada es sólo de compromiso; las moléculas de anhídrido sulfuroso y de ácido sórbico, autorizadas por la ley para este fin, no dejan de ser naturaleza extraña a la armónica y atractiva composición de un vino ecológico. También lo realizado y los posibles logros futuros constituirán en su día el preciso acervo que contribuya, como aportación de ideas explicativas, a una teoría general del vino que necesariamente comprendería desde el origen hasta el valor nutricional como alimento.

En lo que respecta a la trascendencia técnica de todos estos

resultados,creo que estamos en los umbrales de una nueva era en la tecnología de la vinificación,que podríamos calificar como "Proceso de vinificación por sistema de fermentaciones inducidas",es decir, fundamentado esencialmente en una estrategia microbiológica que comporte el uso de especies diferentes de levaduras locales seleccionadas tomadas de las distintas fases fermentativas y de la etapa aerobica.

Con esta nueva tecnología,intentaremos subsanar el principal inconveniente de la tecnología actual,que reduce la realidad de la vinificación a una simple fermentación alcohólica a cargo de una sola especie de *Saccharomyces*.Realidad que cada vez nos aproxima más al vino universal,al vino sin perfil peculiar,al vino sin auténtica identidad,al vino que no tendrá necesidad de ninguna denominación de origen.

Jerez,zona vitivinícola privilegiada en tantos aspectos enológicos también lo es lógicamente en el microbiano.

En la vendimia del año 1958,iniciamos el proyecto de investigación correspondiente a los agentes de vinificación en la zona de Jerez de la Frontera;se tomaron en consideración 20 muestras;5 en cada uno de los cuatro pagos más representativos:Carrascal,Macharnudo,en los alrededores de Jerez;Sanlúcar en las inmediaciones de Sanlúcar de Barrameda y Balbaina,próximo a El Puerto de Santa María.

Se aislaron un total de 300 cepas pertenecientes a trece especies,en su mayoría de alto poder fermentativo (siete),cuatro de escasa capacidad fermentativa y dos de capacidad fermentativa media.

Las especies de poder fermentativos alto fueron:

S. ellipsoideus
S. mangini
S. italicus
S. chevalieri
S. oviformis
Torulaspora delbrueckii
Saccharomyces ludwigii

Las especies de poder fermentativo medio fueron:

Torulaspora rosei
Zigosaccharomyces veronae

Y finalmente las especies de bajo poder fermentativo fueron:

Kloeckera apiculata

Hanseniaspora guilliermondii

Candida pulcherrima

Candida utilis

En la etapa aerobica, las especies halladas fueron:

Saccharomyces beticus

Saccharomyces cheresiensis

Saccharomyces rouxii

Saccharomyces montuliensis

Todas capaces de desarrollar sobre vino con un contenido alcohólico del 15% y las especies:

Hansenula anomala

Zigosaccharomyces acidifaciens

Candida mycoderma y

Pichia membranaefaciens

incapaces de desarrollar sobre vinos de tal contenido alcohólico.

Como hechos más destacados ecológicos y evolutivos señalamos algunos de ellos:

- La mayor proporción de especies participantes en la etapa fermentativa son esporuladas (77,4%) y la menor (22,6%) no esporuladas. En relación con la zona de Montilla, este 22,6% de especies no esporuladas representa una cifra cuatro veces y media superior a la de aquella comarca.
- En primera fase hay que destacar la importante participación de *Hanseniaspora guilliermondii* en un 50% de los casos, acompañando a la *Kloeckera apiculata* que se halla aproximadamente en la misma proporción, y la presencia sólo en la zona más costera, de *Candida pulcherrima*.
- Desplazamiento, en segunda fase, del *Zigosaccharomyces veronae* por *Torulaspora roseii* que prácticamente queda dueña del proceso. Este rasgo, diferencia netamente a los mostos de Jerez de los de Montilla. Finalmente, en tercera fase fermentativa, hay que destacar la presencia de *S. mangini* en un porcentaje de frecuencia del 100%, es decir, que adquiere la misma importancia del *S. ellipsoideus*, levadura eminentemente vínica. Lo mismo ocurre con el *S. italicus*, que llega a alcanzar el 85% de frecuencia. La presencia de *S. ludwigii* en la fermentación espontánea de mosto no ocurre en ninguna otra zona española. Sí ha sido hallada siempre en muestras previamente sulfitadas con

elevadas dosis de SO_2 .

En la etapa aeróbica, todas las especies halladas corresponden prácticamente a levaduras de la familia Endomycetaceas, es decir, esporuladas, exceptuando la *Candida mycoderma*. Están representados desde los modelos metabólicos más fermentativos (especies de *Saccharomyces*), hasta las especies respiratorias estrictas (*C. mycoderma* y *P. membranaefaciens*), pasando por las especies de metabolismo fermentativo intermedio *H. anomala* y *Z. acidifaciens*.

En relación con Montilla, esta etapa es netamente distinta; en Montilla no aparecen en los velos espontáneos más que especies del género *Saccharomyces*.

De notable interés ecológico y filogénico es, como ya os he repetido otras veces, la presencia en tercera fase fermentativa de *S. oviformis* y *S. manginii*.

Según puede deducirse en una primera conclusión de los resultados de este estudio microbiológico, la etapa fermentativa en los mostos de Jerez es de las más amplias en mostos españoles con trece especies en total y siete en tercera fase. La etapa aeróbica, con un contenido blastomicético múltiple también es la más completa hasta ahora hallada y está formada por ocho especies: cuatro pertenecientes al género *Saccharomyces* y otras cuatro a los géneros *Hansenula*, *Candida*, *Zigosaccharomyces* y *Pichia*.

Sin lugar a duda, es el proyecto microbiológico de mayor longitud hasta ahora hallado en nuestra península: 21 especies participantes, lo cual viene también a decirnos que a una mayor complejificación biológica corresponderá lógicamente una mayor complejificación constitucional bioquímica. Es decir, que un vino de Jerez, concluidas sus fases de recorrido biológico resulta un vino de constitución química más compleja, en definitiva un vino más crecido, es decir, un vino verdaderamente criado, como Vds. dicen.

Y para poner punto a esta ya árida relación de datos biológicos, me atrae la idea de volver al principio, al pensamiento del vino como mensaje que termina en una eclosión de alegría del espíritu, ayudándonos a caminar, haciendo liviano al hombre el cumplimiento de su dificultoso, de su espinoso destino. Si el vino se toma con humano temple, con inteligente medida, a esa alegría añadirá el regalo, siempre fresco, de la imaginación creativa o aún el de la fantasía que remite

a los límites del ser, a la frontera donde se mueven los sueños, el arte
la poesía, en definitiva nuestras emociones.

Agradezco mucho la atención que me habeis prestado.

COMPORTAMIENTO DE VARIEDADES DE UVA DE MESA EN LA ZONA DEL JEREZ

García de Luján,A;Morales Godinez,M.;Bustillo Barroso,J.M. y Gil Monreal,M.

Departamento de Viticultura y Enología de Jerez.Servicio de Investigación Agraria de la Junta de Andalucía.

1.- RESUMEN.

En esta comunicación se presentan los resultados del control y estudio de 23 variedades utilizadas como uva de mesa,situada en una colección del la zona del jerez,señalando los datos de mayor interés en relación a su comportamiento y características.

Se indican las más destacadas según los diferentes aspectos analizados y considerando el conjunto de sus propiedades en la colección estudiada.

2.- INTRODUCCION.

La viticultura en la zona del jerez ha sido y es la base de uno de los vinos más famosos del mundo.El viticultor de esta región ha cultivado la viña para producir una uva que casi siempre se ha sometido posteriormente a un proceso de vinificación.Bien es verdad que ha habido épocas en las que el producto de la viña se ha destinado a otra finalidad.Así,durante la ocupación árabe,presumiblemente la uva se consumiría en su mayor parte directamente o convertida en pasa. Pero la resonancia y prestigio de esta zona se ha debido,sin duda,a los vinos procedentes de los viñedos en ella cultivados.

A pesar de ello,y como sucede en tantas regiones vitícolas, sobre todo meridionales,siempre han existido parcelas dedicadas a la producción de uva para consumo directo,es decir,de uva de mesa.En la zona del jerez,además,la obtención de pasas para la elaboración de vinos dulces es una práctica muy tradicional.Entre las variedades de uva de mesa propias de la región han destacado la Moscatel,Mantúo,Beba,Uva Rey, etc.En realidad,el cultivo de estas variedades no se ha destacado especialmente del de la Palomino,ni la uva de mesa ha constituido una actividad con marcada personalidad como sucede en otras regiones españolas.Si acaso,la explotación del Moscatel puede tener

cierta relevancia, aunque sin alcanzar la entidad de otras zonas productoras.

Esta comarca tiene una marcada vocación vitícola y el cultivo de la vid puede llevarse a cabo con facilidad tanto por las condiciones del clima y terreno como por la existencia de un personal especializado y conocedor de la viticultura. Por tanto, cabe pensar en el interés que podría tener en ella el cultivo de la uva de mesa, de forma más intensiva, al menos en determinadas zonas. Por supuesto, dicho interés estaría determinado en gran parte por las posibilidades comerciales que ofreciera dicho cultivo, pero desde el punto de vista agronómico no parece que existan graves inconvenientes para desarrollar esta especialidad vitícola en la comarca, si bien habría que profundizar y estudiar determinados aspectos como terrenos, riego y otras labores especiales.

Por ello nos ha parecido de interés ofrecer una serie de datos sobre un capítulo tan importante dentro del cultivo de la uva de mesa como es el comportamiento de las variedades a emplear.

De los controles que venimos efectuando en una colección instalada en esta zona desde hace varios años, podemos presentar una información bastante completa relativa a diversas variedades de uva de mesa, algunas de resonancia internacional, cultivadas en todo el mundo, y otras más o menos tradicionales de la zona.

3.- MATERIAL ESTUDIADO.

3.1.- Emplazamiento.

La colección a que hemos hecho referencia está injertada sobre patrón 41-B y se encuentra situada en el término de Jerez de la Frontera, sobre terreno clásico de albariza con proporciones de caliza activa del orden del 25%, homogéneo para el conjunto de las variedades estudiadas.

Las características climáticas de esta zona han sido detalladamente descritas por Hidalgo (1980) y son:

Temperatura media anual	17,3°C
Precipitación anual	582 mm
Evaporación potencial	875 mm
Índice de humedad	0,67
Índice de Papadakis	Ci,°

Las constantes vitícolas son las siguientes:

Período activo de vegetación	365 días
Temperatura media en período activo.	17,3°C
Integral térmica activa	6352
Integral térmica eficaz	2705
Precipitación en período activo	582 mm
Evaporatranspiración actual en período activo	308 mm
Integral de horas de luz en período activo	4455

Las características vitícolas son:

Integral térmica activa	6352
Índice térmico eficaz de Winkler	2705
Equivalente pluviométrico de sequía de Azzi	550
Índice hidrotérmico de Branas	1780
Coefficiente hidrotérmico de Zuluaga	22
Coefficiente hidrotérmico de Seleaninov	2,4
Producto heliotérmico de Branas	11,9
Índice de posibilidades heliotérmicas de Huglin	2750
Índice bioclimático de Constantinescu	13
Índice bioclimático de Hidalgo	20
Índice bioclimático de Popa	25,1

Los datos específicos de la parcela en donde se encuentra la colección estudiada son los siguientes:

Marco de plantación: 3 x 1,5; 2,5 x 1,25; 2,2 x 1,1.

Número de cpas controladas: 10 cepas por variedad (5 en vara y pulgar y 5 en poda corta). En algunas variedades, hasta 1045 cepas.

Fecha de plantación: Enero de 1968.

Poda: Vara y pulgar a 12 yemas y corta en vaso con 6 pulgares a 2 yemas.

Conducción: Libre, sin espaldera en su mayor parte, apoyando las varas en tutores.

Tipo de injerto: Escudete y púa.

Ordenación de la parcela: Plantadas las distintas variedades en líneas, unas a continuación de las otras, sin planteamiento estadístico.

Años de control: 8 en su mayor parte.

Cultivo de secano sin riego.

3.2.- Variedades.

Hemos escogido en la colección las variedades más conocidas o que tienen algún interés especial como uva de mesa, para presentar en este trabajo los datos más significativos sobre su comportamiento. Son las siguientes:

Aledo	Moscatel de Hamburgo
Anna María	Opale
Cardinal	Palomino fino
Corredera (Palomino X Cardinal 4)	Perla de Csaba
Chasselas dorada	Parola de Gestosa
Chasselas Michel Tompa	Primus 7 Pirovano
Chelva	Reina de las viñas
Delizia di Vaprio	Rosaki
Italia	Sultanina
Mantúo	Torralba
Medina (Palomino X Cardinal 12)	Valencí blanco
Moscatel blanco	

Se ha incluido el palomino fino, variedad clásica de la zona, para servir de referencia.

4.- CARACTERISTICAS DE LAS VARIEDADES.

Las fechas que se señalan a continuación se refieren al momento en que aproximadamente, la mitad de los órganos controlados (yemas, flores, bayas) han cumplido el estado fisiológico correspondiente.

Variedad: ALEDO (marco de plantación de 3 x 1,5 m.).

Fecha de brotación: Sobre el 30 de Marzo.

Fecha de floración: Sobre el 29 de Mayo.

Fecha de envero: Sobre el 3 de Agosto.

Fecha de maduración: - -

Kg de uva por cepa en poda vara y pulgar: 3,22.

Kg de uva por cepa en poda corta: 2,57

Grado Baumé medio al 31 de Agosto: 9,14.

Observaciones: Dada su madurez tardía, no tenemos datos de la fecha correspondiente, pues la colección se vendimia en Septiembre.

Variedad:ANNA MARIA (marco de plantación de 3 x 1,5 m.).
Fecha de brotación:Sobre el 16 de Febrero.
Fecha de floración:Sobre el 8 de Mayo.
Fecha de envero:Sobre el 7 de Junio.
Fecha de maduración:A partir del 10 de Julio.
Kg de uva por cepa en poda de vara y pulgar:2,32.
Kg de uva por cepa en poda corta:1,88.
Grado Baumé medio al 25 de Agosto:14,05.
Acidez (gr/l) en tartárico al 25 de Agosto:3.24.
Observaciones:Racimos pequeños de color dorado.Sabor agradable.
Muy propensa a daños de pájaros e insectos.

Variedad:CARDINAL (marco de plantación 3 x 1,5 m.).
Fecha de brotación:Sobre el 16 de Marzo.
Fecha de floración:Sobre el 19 de Mayo.
Fecha de envero:Sobre el 4 de Julio.
Fecha de maduración:A partir del 20 de Julio.
Kg de uva por cepa en poda de vara y pulgar:5,28.
Kg de uva por cepa en poda corta:3,89.
Grado Baumé medio al 29 de Agosto:14,49.
Acidez (gr/l) en tartárico al 29 de Agosto:5,29.
Observaciones:Racimos y bayas grande de color rojo-violeta oscuro consistentes y de buena presencia.Se comporta mejor con poda de cordón de pulgares.Algo sensible al oidio y al rajado del fruto.

Variedad:CORREDERA (Palomino X Cardinal 4) (marco de plantación de 2,2 x 1,1 m.).
Fecha de brotación:Sobre el 16 de Marzo.
Fecha de floración:Sobre el 15 de Mayo.
Fecha de envero:Sobre el 10 de Julio.
Fecha de maduración:A partir del 20 de Agosto.
Kg de uva por cepa en poda de vara y pulgar:5,57.
Kg de uva por cepa en poda corta:3,85.
Grado Baumé medio al 2 de Septiembre:12,60.
Acidez (gr/l) en tartárico al 2 de Septiembre:5,27.
Observaciones:Variedad blanca con racimos de tamaño medio sueltos.

Granos esféricos de dimensiones medias. Frutos de color dorado y sabor dulce, con buena presencia. Variedad obtenida en este Departamento en 1971.

Variedad: CHASSELAS DORADA (marco de plantación de 2,2 x 1,1 m.).

Fecha de brotación: Sobre el 15 de Marzo.

Fecha de floración: Sobre el 24 de Mayo.

Fecha de envero: Sobre el 21 de Julio.

Fecha de maduración: A partir del 5 de Septiembre.

Kg de uva por cepa en poda de vara y pulgar: 3,13.

Kg de uva por cepa en poda corta: 3,83.

Grado Baumé medio al 2 de Septiembre: 8,58.

Acidez (gr/l) en tartárico al 2 de septiembre: 6,24.

Observaciones: Racimo y bayas de tamaño medio. Frutos de color dorado y sabor neutro.

Variedad: CHASSELAS MICHEL TOMPA (marco de plantación de 3 x 1,5 m.).

Fecha de brotación: Sobre el 5 de Marzo.

Fecha de floración: Sobre el 19 de Mayo.

Fecha de envero: Sobre el 26 de Julio.

Fecha de maduración: A partir del 25 de Agosto.

Kg de uva por cepa en poda de vara y pulgar: 5,03.

Kg de uva por cepa en poda corta: 3,96.

Grado Baumé medio al 31 de Agosto: 10,98.

Acidez (gr/l) en tartárico al 31 de Agosto: 6,14.

Observaciones: Racimos largos y sueltos. Frutos de tamaño mediano, dorados, de sabor agradable y buena presencia.

Variedad: CHELVA (marco de plantación de 3 x 1,5 m.).

Fecha de brotación: Sobre el 23 de Marzo.

Fecha de floración: Sobre el 25 de Mayo.

Fecha de envero: Sobre el 4 de Agosto.

Fecha de maduración: A partir del 1 de Septiembre.

Kg de uva por cepa en poda de vara y pulgar: 5,07.

Kg de uva por cepa en poda corta: 4,77.

Grado Baumé medio al 2 de Septiembre: 9,23.

Acidez (gr/l) en tartárico al 2 de Septiembre:6,10.

Observaciones:Racimos largos y frutos de color verdoso con manchas pecosas, según exposición al sol. Uvas de hollejo basto, gusto sabrosos, no muy azucarado y algo ácido.

Variedad:DELIZIA DI VAPRIO (marco de plantación 3 x 1,5 m.).

Fecha de brotación:Sobre el 14 de Marzo.

Fecha de floración:Sobre el 23 de Mayo.

Fecha de envero:Sobre el 11 de Julio.

Fecha de maduración:A partir del 15 de Agosto.

Kg de uva por cepa en poda de vara y pulgar:5,28.

Kg de uva por cepa en poda corta:4,73.

Grado Baumé medio al 31 de Agosto:12,90

Acidez (gr/l) en tartárico al 31 de Agosto:5,51.

Observaciones:Racimo de tamaño medio, algo suelto y de buena presencia. Bayas de color blanco dorado, grosor medio y piel fina. Sabor agradable y amoscotelado. Variedad algo sensible al oidio.

Variedad:ITALIA (marco de plantación de 3 x 1,5 m.).

Fecha de brotación:Sobre el 8 de Marzo.

Fecha de floración:Sobre el 19 de Mayo.

Fecha de envero:Sobre el 24 de Julio.

Fecha de maduración:A partir del 25 de Agosto.

Kg de uva por cepa en poda de vara y pulgar:3,00.

Kg de uva por cepa en poda corta:3,12.

Grado Baumé medio al 31 de Agosto:10,23.

Acidez (gr/l) en tartárico al 31 de Agosto:5,74.

Observaciones:Racimos y bayas de tamaño grande. Frutos expuestos al sol de color dorado, de muy buena presencia y sabor amoscotelado. Se considera que posee buen comportamiento al transporte y a su conservación.

Variedad:MANTUO (marco de plantación de 3 x 1,5 m.).

Fecha de brotación:Sobre el 17 de Marzo.

Fecha de floración:Sobre el 25 de Mayo.

Fecha de envero:Sobre el 3 de Agosto.

Fecha de maduración:A partir del 10 de Septiembre.

Kg de uva por cepa en poda de vara y pulgar:4,55.

Kg de uva por cepa en poda corta:5,26.

Grado Baumé medio al 30 de Agosto:9,03.

Acidez (gr/l) en tartárico al 30 de Agosto:5,87.

Observaciones:Racimos largos y anchos.Granos carnosos casi esféricos,de color verde,poco atrayente,hollejo basto,gusto azucarado y sabroso.Se la considera con buen comportamiento al transporte y a su conservación después de la vendimia o en la cepa.

Variedad:MEDINA (palomino X Cardinal 12) (marco de plantación de 2,2 x 1,1 m.).

Fecha de brotación:Sobre el 18 de Marzo.

Fecha de floración:Sobre el 19 de Mayo.

Fecha de envero:Sobre el 6 de Julio.

Fecha de maduración:A partir del 15 de Agosto.

Kg de uva por cepa en poda de vara y pulgar:4,06.

Kg de uva por cepa en poda corta:3,34.

Grado Baumé medio al 3 de Septiembre:14,79.

Acidez (gr/l) en tartárico al 3 de septiembre:5,04.

Observaciones:Variedad negra de racimos largos y sueltos y granos esféricos de tamaño mediano.Frutos de sabor dulce,de mediana presencia y buen comportamiento en la pasificación.Algo sensible al oidio.Variedad obtenida en este Departamento en 1971.

Variedad:MOSCATEL BLANCO (marco de plantación de 2,5 x 1,25 m.).

Fecha de brotación:Sobre el 18 de Marzo.

Fecha de floración:Sobre el 24 de Mayo.

Fecha de envero:Sobre el 19 de Julio.

Fecha de maduración:A partir del 5 de septiembre.

Kg de uva por cepa en poda de vara y pulgar:3,11.

Kg de uva por cepa en poda corta:2,84.

Grado Baumé medio al 30 de Agosto:11,60.

Acidez (gr/l) en tartárico al 30 de Agosto:5,99.

Observaciones:Variedad blanca de racimos muy claros.Produce numerosos rebuscos de maduración más tardía.Sabor muy característico.



Variedad:MOSCATEL DE HAMBURGO (marco de plantación de 3 x 1,5 m.).

Fecha de brotación:Sobre el 13 de Marzo.

Fecha de floración:Sobre el 16 de Mayo.

Fecha de envero:Sobre el 7 de Julio.

Fecha de maduración:A partir del 20 de Julio.

Kg de uva por cepa en poda de vara y pulgar:4,16.

Kg de uva por cepa en poda corta:2,67.

Grado Baumé medio al 1 de Septiembre:11,71.

Acidez (gr/l) en tartárico al 1 de Septiembre:5,28.

Observaciones:Variedad negra de granos algo pequeños pero de buen sabor (amoscatelado).Fruto de mediana presencia.

Variedad:OPALE (marco de plantación de 3 x 1,5 m.).

Fecha de brotación:Sobre el 17 de Marzo.

Fecha de floración:Sobre el 21 de Mayo.

Fecha de envero:Sobre el 28 de Julio.

fecha de maduración:A partir del 25 de Agosto.

Kg de uva por cepa en poda de vara y pulgar:2,19.

Kg de uva por cepa en poda corta:2,19.

Grado Baumé medio al 30 de Agosto:11,25.

Acidez (gr/l) en tartárico al 30 de Agosto:5,51.

Observaciones:Frutos semejantes a los de la variedad Italia.

Variedad:PALOMINO FINO (marco de plantación de 2,5 x 1,25 m.).

Fecha de brotación:Sobre el 24 de Marzo.

Fecha de floración:Sobre el 24 de Mayo.

Fecha de envero:Sobre el 16 de Julio.

Fecha de maduración:A partir del 1 de Septiembre.

Kg de uva por cepa en poda de vara y pulgar:5,28.

Kg de uva por cepa en poda corta: - -

Grado Baumé medio al 2 de Septiembre:10,44.

Acidez (gr/l) en tartárico al 2 de Septiembre:5,13.

Variedad:PERLA DE CSABA (marco de plantación de 3 x 1,5 m.).

Fecha de brotación:Sobre el 12 de Febrero

Fecha de floración:Sobre el 6 de Mayo.

Fecha de envero:Sobre el 16 de Junio.

Fecha de maduración:A partir del 19 de Julio.

Kg de uva por cepa en poda de vara y pulgar:1,81.

Kg de uva por cepa en poda corta:2,79.

Grada Baumé medio al 27 de Agosto:14,93.

Acidez (gr/l) en tartárico al 27 de Agosto:4,26.

Observaciones:Racimos y bayas pequeños de color dorado.Sabor ligeramente amoscotelado.Muy propensa a picaduras de insectos y pájaros.

Variedad:PEROLA DA GESTOSA (marco de plantación de 3 x 1,5 m.).

Fecha de brotación:Sobre el 19 de Marzo.

Fecha de floración:Sobre el 22 de Mayo.

Fecha de envero:Sobre el 23 de Julio.

Fecha de maduración:A partir del 1 de Septiembre.

Kg de uva por cepa en poda de vara y pulgar:3,42.

Kg de uva por cepa en poda corta:2,96.

Grado Baumé medio al 31 de Agosto:9,88.

Acidez (gr/l) en tartárico al 31 de Agosto:5,56.

Observaciones:Racimos largos y sueltos.Bayas elípticas de color dorado,sabor neutro y hollejo resistente.

Variedad:PRIMUS 7 PIROVANO (marco de plantación de 2,5 x 1,25 m.).

Fecha de brotación:Sobre el 15 de Febrero.

Fecha de floración:Sobre el 8 de Mayo.

Fecha de envero:Sobre el 5 de Julio.

Fecha de maduración:A partir del 1 de Agosto.

Kg de uva por cepa en poda de vara y pulgar:2,62.

Kg de uva por cepa en poda corta:2,06.

Grado Baumé medio al 26 de Agosto:13,36.

Acidez (gr/l) en tartárico al 26 de Agosto:4,42.

Observaciones:Racimos numerosos de tamaño medio y compactos.Granos esféricos de color blanco dorado y sabor punzante.Causa problemas en la recolección pues el fruto se desgrana con gran facilidad.

Variedad:REINA DE LAS VIÑAS (marco de plantación de 3 x 1,5 m.).

Fecha de brotación:Sobre el 10 de Febrero.

Fecha de floración:Sobre el 13 de Mayo.

Fecha de envero:Sobre el 4 de Julio.

Fecha de maduración:A partir del 20 de Julio.

Kg de uva por cepa en poda de vara y pulgar:1,62.

Kg de uva por cepa en poda corta:1,70.

Grado baumé medio al 27 de Agosto:12,17.

Acidez (gr/l) en tartárico al 27 de Agosto:3,92.

Observaciones:Racimos poco numerosos, de tamaño mediano y sueltos, con uvas de color blanco verdoso y sabor ligeramente amoscatedado

Variedad:ROSAKI (marco de plantación de 3 x 1,5 m.).

Fecha de brotación:Sobre el 17 de Marzo.

fecha de floración:Sobre el 25 de Mayo.

Fecha de envero:Sobre el 30 de Julio

Fecha de maduración:A partir del 3 de Septiembre.

Kg de uva por cepa en poda de vara y pulgar:5,09.

Kg de uva por cepa en poda corta:4,89.

Grado Baumé medio al 31 de Agosto:9,60.

Acidez (gr/l) en tartárico al 31 de Agosto:5,28.

Observaciones:Variedad blanca de racimos largos y sueltos, con buena presencia. Es algo sensible al oidio.

Variedad:SULTANINA (marco de plantación de 2,5 x 1,25 m.).

Fecha de brotación:Sobre el 3 de Marzo.

Fecha de floración:Sobre el 21 de Mayo.

Fecha de envero:Sobre el 21 de Julio.

Fecha de maduración:A partir del 20 de Agosto.

Kg de uva por cepa en poda de vara y pulga :1,58.

Kg de uva por cepa en poda corta:1.32.

Grado Baumé medio al 2 de Septiembre:13,88.

Acidez (gr/l) en tartárico al 2 de Septiembre:4,98.

Observaciones:Racimos grandes y muy poco numerosos, uvas pequeñas sin pepitas, de color amarillo oro y muy dulces. El fruto posee problemas en su manipulación por su facilidad al desgrane. El pedicelo es adherente a la baya. Buen comportamiento en pasificación.

Variedad: TORRALBA (marco de plantación 3 x 1,5 m.).

Fecha de brotación: Sobre el 29 de Marzo

Fecha de floración: Sobre el 28 de Mayo.

Fecha de envero: Sobre el 2 de Agosto.

Fecha de maduración: A partir del 5 de Septiembre.

Kg de uva por cepa en poda de vara y pulgar: 5,09.

Kg de uva por cepa en poda corta: 4,89.

Grado Baumé medio al 31 de Agosto: 9,03.

Acidez (gr/l) en tartárico al 31 de Agosto: 6,23.

Observaciones: Racimos largos y sueltos. Bayas de color negro y tamaño mediano, hollejo resistente y sabor neutro.

Variedad: VALENCI BLANCO (marco de plantación de 3 x 1,5 m.).

Fecha de brotación: Sobre el 18 de Marzo.

Fecha de floración: Sobre el 24 de Mayo.

Fecha de envero: Sobre el 31 de Julio.

Fecha de maduración: A partir del 1 de Septiembre.

Kg de uva por cepa en poda de vara y pulgar: 5,61.

Kg de uva por cepa en poda corta: 4,41.

Grado Baumé medio al 31 de Agosto: 8,68.

Acidez (gr/l) en tartárico al 31 de Agosto: 5,50.

Observaciones: Variedad blanca de caracteres similares a la Chelva

5.- CONSIDERACIONES FINALES

De acuerdo con los resultados anteriores, amenera de conclusiones caben destacar los siguientes puntos:

- La sequía habida en los últimos años en esta zona ha provocado descensos generalizados de producción. Por ello, hay que pensar que, en condiciones más normales, las cifras medias obtenidas de Kg de uva por cepa habrían sido mayores. En caso de aplicar riego a todas estas variedades, lógicamente las producciones aumentarían, al igual que variarían otros parámetros, como puede ser la época de maduración. Los resultados serían también diferentes en otro tipo de terreno.
- Las variedades de maduración más temprana, a lo largo del mes de Julio, son las PERLA DE CSABA, ANNA MARIA, REINA DE LAS VIÑAS; MOSCATEL DE HAMBURGO y CARDINAL. Solamente las dos últimas, y en espe-

cial la CARDINAL, tienen producción, características y comportamiento satisfactorios.

- No hemos estudiado hasta el momento el comportamiento de variedades tardías en la última fase de su ciclo, ya que la vendimia de la colección se realiza en la primera mitad del mes de Septiembre. Algunas de las variedades estudiadas como la ALEDO, CHELVA, MANTUO, TORRALBA, ROSAKI y VALENCI BLANCO, pueden permanecer más tiempo en la cepa y ser vendimiadas posteriormente. En cualquier caso, entre las denominadas tardías, destacan por el conjunto de sus características las ROSAKI, VALENCI BLANCO y CHELVA.
- En el grupo de maduración intermedia, que se inicia a lo largo de la segunda mitad del mes de Agosto, principalmente, presentan un comportamiento de mayor interés las ITALIA, OPALE y DELIZIA DI VAPRIO.
- Queremos señalar las especiales características de las variedades CORREDERA Y MEDINA, obtenidas por hibridación en este Departamento. Maduran en el mes de Agosto y tienen buena producción, en especial, la CORREDERA. Hay que resaltar el alto contenido en azúcar de la variedad MEDINA y su buen comportamiento en la pasificación. En estos momentos llevamos a cabo un programa de obtención de nuevas variedades de uva de mesa del que cabe esperar resultados de gran interés.
- Pocas variedades superan al PALOMINO FINO en producción, lo que confirma su buena adaptación a esta zona.
- Las variedades más conocidas internacionalmente como la SULTANINA ITALIA, ROSAKI, CARDINAL o MOSCATEL, presentan un comportamiento desigual. La producción de la SULTANINA es muy baja, la de la ITALIA y la ROSAKI es mediana, siendo algo superior la del MOSCATEL DE HAMBURGO y sobresaliendo la de la CARDINAL. De hecho, esta última variedad se cultiva algo en la zona. Parece convenirle especialmente la poda corta en cordón.
- Por las características del fruto (presencia, sabor, consistencia, aptitud para su conservación y transporte, etc.) podemos destacar las ITALIA, CARDINAL, ROSAKI, MOSCATEL, OPALE, SULTANINA y DELIZIA DI VAPRIO.
- El tipo de poda, manteniendo igual número de yemas, influye en la producción, afectando de forma distinta a las variedades. Incide

claramente en la presencia y forma de racimos y bayas. La poda corta ayuda a una mayor homogeneidad del fruto pero casi siempre proporciona una menor cosecha.

- En la colección estudiada no se han presentado problemas especiales por la fecha, temprana o tardía, de la brotación. Si acaso, una mayor incidencia de daños de determinados herbicidas aplicados a cultivos de cereales vecinos y algún riesgo mayor de alguna afección patológica en las variedades tempranas.
- En los ensayos que hemos realizado para estudiar la facilidad de pasificación, destacan las MEDINA, SULTANINA y CARDINAL.
- Desde el punto de vista de comportamiento en campo, destacan la TORRALBA, VALENCI BLANCO, CHELVA y PALOMINO.
- A modo de resumen, podemos señalar como variedades de mayor interés para esta zona, de acuerdo con los datos obtenidos en nuestras condiciones de trabajo (suelo, clima, material vegetal, tipo de cultivo, etc.) las CARDINAL, ITALIA, ROSAKI, DELIZIA DI VAPRIO, VALENCI BLANCO, CHELVA y MOSCATEL. La sultanina, muy extendida en todo el mundo, tiene frutos de gran interés, según se ha señalado, pero cultivada como el resto de las variedades en nuestra colección, es muy poco productiva.

7.- BIBLIOGRAFIA CONSULTADA.

BRANAS, J. y TRUEL, P. "Variétés de raisins de table". Vol. I; II y III. Montpellier (1965).

FERNANDEZ DE BOBADILLA, G. "Viníferas jerezanas y de Andalucía Occidental". I. N. I. A. Madrid (1956).

GALET, P. "Cépages et vignobles de France". Vol. IV. Montpellier (1964).

HIDALGO, L. "Caracterización macrofísica del ecosistema medio-planta en los viñedos españoles". Comunicaciones I. N. I. A. Serie Producción Vegetal nº 29. Madrid (1980).

LA MADERA RIZADA DE LA VID: UN SÍNDROME DE CARÁCTER VIROTICO CON INCIDENCIA ECONOMICA EN LA VITICULTURA.

Padilla Villalba, V. y Martínez Cutillas, A.

Departamento de Hortofruticultura. Centro Regional de Investigaciones Agrarias. La Alberca (Murcia).

RESUMEN

Se describe la sintomatología y la etiología del síndrome Madera Rizada que cada día está teniendo una mayor difusión e importancia en la viticultura española.

INTRODUCCION

Esta afección se encuentra en casi todos los países vitícolas del mundo: Italia, España, Francia, Suiza, Portugal, Yugoslavia, Hungría, Bulgaria, Rumanía, Checoslovaquia, URSS, Grecia, Israel, Jordania, África del Sur, Estados Unidos y Venezuela (1).

Su descubrimiento, en cuanto a sintomatología, lo podemos situar en 1924 (RAVAZ y VERGE), los cuales describieron las acanaladuras típicas, aún cuando las relacionaron con el enrojecimiento (rougeau) fisiológico.

La Madera Rizada es una enfermedad que no ha recibido la consideración necesaria por parte de viticultores y técnicos, habiéndose dedicado la mayor parte de los esfuerzos de unos y otros a solucionar los problemas derivados de la presencia de otras virosis consideradas de mayor importancia: Entrenudo Corto Infeccioso, Enrollado, Jaspeado, etc. Este hecho ha constituido, tal vez, un factor importante en la expansión de la Madera Rizada, al no haber incidido durante los procesos de selección en su sintomatología.

Importancia económica

Las plantas afectadas ven gravemente disminuido su crecimiento y llegan a morir a los 7 u 8 años de haberse producido la infección (2), siendo, al parecer, algunos cultivares más sensibles que otros, exteriorizando los síntomas con mayor claridad; TELIZ y VALLE (3) señalaban como:

Muy sensibles:	Cardinal
	Loose perlette
	Thompson seedless
	Pinot noir
	Italia
Medianamente sensibles:	Ohanes
	Queen
	Aleatico
	Malvasia negra
Poco sensible:	Seibal 13053
	Niágara
	Mataró

De acuerdo con GRANITI y MARTELLI (4) la importancia de los daños sufridos depende de:

- Combinación portainjerto-cultivar
- Suceptibilidad de las variedades europeas
- Posiblemente de la virulencia de las estirpes del agente causante

Sintomatología

Los síntomas son en general más acentuados en los portainjertos que en las variedades europeas, presentando las plantas afectadas un menor vigor y un retraso de 4 a 5 semanas en la apertura de yemas respecto a las cepas y parras sanas.

Las manifestaciones más llamativas corresponden a las observadas en la madera, de donde procede el nombre de la enfermedad; ya que en la epidermis se observa que las características de conformación no son las normales, adquiriendo un relieve de tipo acorchado, levantando la corteza se observan acanaladuras y pocillos que en casos graves se manifiestan exteriormente, y que han llevado a algunos autores a considerar dos denominaciones: Grapevine Stem Pitting Disease (caso de los pocillos) y Grapevine Stem Grooving Disease (caso de los canales); estos síntomas son notorios también a nivel de raíces.

En la zona del injerto se observa un diámetro muy desigual entre patrón e injerto, siendo corriente que se manifiesten los síntomas descritos con mayor claridad en uno que en otro, ocurriendo así mismo, que el patrón muestre síntomas y el cultivar no, y dándose tam-

bién el caso contrario si bien con menos frecuencia.

En hojas se pueden apreciar un tono rojizo previo a lo que sería la madurez fisiológica normal (2) siendo algunas variedades más sensibles a este hecho: Alicante Bouschet, Cariñena, Gamay o Garnacha.

Todos los síntomas citados proceden de la no formación de floema ni xilema a nivel de canalillos y pocillos, por lo que el funcionamiento del cambium libero-leñoso se ve muy afectado, con producción de parénquima liberiano y parénquima leñoso pero no de vasos conductores, con lo que los elementos nutritivos no circulan como debieran ni en las cantidades necesarias.

Etiología

Se trata de un síndrome cuyo agente causante es de naturaleza desconocida siendo muchas y variadas las hipótesis al respecto, desde considerar que se pudiera tratar de un viroide (GALLITELLI y SAVINO), que fuera un closterovirus (5) o que se trate de una estirpe del virus del Entrenudo Corto Infeccioso. También se ha establecido una estrecha relación con la afección conocida como Madera Acorchada (Corky bark) (6) y en algún momento se ha asociado con el Enrollado (7); así mismo, se han observado partículas víricas isométricas de diámetro igual a 30 nm relacionadas con la presencia de la Madera Rizada (8).

Transmisión

Esta enfermedad se transmite fundamentalmente mediante injerto, desconociéndose hasta el momento si existen vectores aéreos o subterráneos capaces de transmitir este síndrome, aún cuando se han observado algunos casos en los que parece haberse producido una contaminación natural y en cuyo suelo se ha encontrado el nemátodo *Xiphinema index* (4).

PRESENCIA DE LA MADERA RIZADA EN NUESTRA VITICULTURA

Desde el año 1978 hemos venido realizando selecciones clonal-sanitarias en diversas zonas de nuestra geografía, observándose a lo largo de estos procesos de selección claros síntomas de esta enfermedad, la cual se encuentra ampliamente distribuida y con diversos grados de virulencia (9).

<u>Provincia</u>	<u>Zona</u>	<u>Cultivar</u>	<u>Portainjerto</u>
Murcia	Hoya del Campo	D. Mariano	Varios
	"	Ohanes	"
	Yecla	Valencí negra	110-R
	Jumilla	D. Mariano	Varios
	Alhama de Murcia	Italia	41-B
	"	D. Mariano	Varios
Almería		Ohanes	Varios
Zaragoza	Cariñena	Garnacha	110-R
	Borja	Varias	Varios
	Calatayud	Varias	Varios

En el año 1983 y visto que este síndrome se encontraba cada vez con mayor frecuencia iniciamos un proceso de seguimiento y toma de datos con la finalidad de establecer un diagnóstico epidemiológico; en dicho año pensamos que como consecuencia de la prolongada sequía que venimos padeciendo desde hace unos años, observamos que el número de plantas afectadas parecía incrementarse y que los síntomas eran más ostensibles; este hecho lo atribuimos (9) a que al producirse una evapotranspiración muy fuerte la planta pone en funcionamiento sus medios de defensa entre los que se encuentra una mayor exigencia en agua, pero como los tejidos conductores se encuentran dañados en mayor o menor grado por este síndrome, no son capaces de enviar el aporte de agua necesario para mantener el adecuado equilibrio hídrico de la planta, con lo cual esta se ve avocada a una muerte más rápida que en condiciones de pluviometría normal; se podría indicar que también ocurre en los cultivares dedicados a uva de mesa, los cuales se riegan de manera periódica y por tanto no presentan problemas de aporte de agua, pero lo cierto es que la sequía venía acompañada de temperaturas muy elevadas y ello nos condujo a pensar que el daño es tal vez mayor en las plantaciones regadas en exceso, debido a fuertes desequilibrios en la relación evotranspiración/aporte de agua como consecuencia de que las raíces se encuentran en un suelo demasiado húmedo, y la parte aérea está sometida a elevadas temperaturas.

CONCLUSIONES

De las observaciones realizadas y del número de plantas afectadas por la Madera Rizada, podemos deducir la necesidad de considerar este síndrome como una de las afecciones graves de carácter virótico que afectan a la vid. Es evidente que aún no se pueden sacar conclusiones definitivas, pero si es motivo de seria reflexión, ya que si realizamos las distintas selecciones clonal-sanitarias en las diversas zonas vitícolas y no se tiene en cuenta la presencia de esta enfermedad, podemos llegar a tener un material exento de las virosis contra las que seleccionamos y testamos de manera rutinaria: Entrenudo Corto Infeccioso, Enrollado y Jaspeado, pero si no consideramos la presencia de la Madera Rizada, se puede llegar a comercializar un material afectado por este síndrome.

De todo lo anterior sacamos la conclusión de que es necesario introducir en los esquemas de la selección clonal-sanitaria la problemática de la Madera Rizada, incluyéndola de forma obligatoria en los testados realizados para establecer la bondad del material vegetal respecto a virosis, ya que su presencia supone una incidencia económica negativa.

BIBLIOGRAFIA

- (1).- BOVEY, R.; GARTEL, W.; HEWITT, W.B.; MARTELLI, G.P. and VUITTENEZ, A. "Virus and virus like disease of grapevine". Ed. Payot. Lausanne. 1980.
- (2).- VALAT, C.; GRENNAN, S. et BONNET, A. Le Prog. Agr. et Vit. 6, (1981).
- (3).- TELIZ, D. and VALLE, P. Proc. 7th. Meet. I.C.V.G. Niagara Falls. 71-76. (1980).
- (4).- GRANTINI, A. and MARTELLI, G.P. "Virus Disease of Small Fruits and grapevine" Univ. Calif. Div. of Agric. Berkeley, California (USA). 243-245, (1970).
- (5).- CONTI, M.; MILNE, R.G.; LUISONI, E and BOCCARDO, G. Phytopathology 70, 364-399, (1980).
- (6).- HEWITT, W.B. Plan Dis. Repr. 59, 845-848, (1975).
- (7).- LEGIN, R. Ann. Phytopathol. n.h.s. 49-57, (1982).
- (8).- BELL, G.; FAORO, F.; FORTUSINI, A. and VEGETTI, G. Proc. 7th. Meet. I.C.V.G. Niagara Falls, 77-80, (1980).
- (9).- PADILLA, V. y MARTINEZ, A. II Congreso Nac. de Fitopatología. S.E.F. Vitoria (1983).

EXTRACCION Y ESTUDIO DEL ACEITE DE SEMILLA DE UVA PALOMINO

Galán Vallejo, M. (*); Martínez Massanet, G.; Montiel Tosso, J. A.; Pando Ramos, E. y Rodríguez Luis, F.

Departamento de Química Orgánica. Facultad de Ciencias de Cádiz.

(*) Departamento de Química Técnica. Facultad de Ciencias de Cádiz.

RESUMEN

Se ha realizado un estudio de la extracción, determinación de parámetros físico-químicos y composición en ácidos grasos del aceite de semilla de uva variedad Palomino (*Vitis vinifera*, var. Palomino), característica del Marco de Jerez.

1.- INTRODUCCION

Recientemente hemos iniciado en nuestros laboratorios una línea de investigación con vistas al mejor aprovechamiento de los componentes, como aceite, proteínas, etc., de la semilla de uva Palomino (*Vitis vinifera*, variedad Palomino), propia del Marco del Jerez.

Dentro de dicha línea, este primer trabajo se ha centrado en el estudio de la extracción del aceite de la semilla, y en especial, en la determinación de las características físico-químicas y composición en ácidos grasos del mismo.

2.- MOLIDO, TAMIZADO Y SECADO DE LA SEMILLA

2.1.- Molido y tamizado

Una vez separada la semilla del orujo se ha procedido al molido de la misma en un molinillo Braun AG 4045 en su posición de molido más fino. La semilla molida se tamizó separando cuatro fracciones de tamaño de grano: Frac. 1, grano de diametro menor de 0,25 mm; Frac. 2, de 0,25 a 0,50; Frac. 3, de 0,50 a 0,75 y Frac. 4, mayor de 0,75. El tiempo idóneo de tamizado fué de 45 minutos.

2.2.- Secado de la semilla molida

El estado de humedad de la semilla molida es de gran importancia pues afecta en buena medida al rendimiento en la extracción de

aceite.. Se ha procedido por ello a ensayos de secado de las distintas fracciones de grano por calentamiento y mediante el uso de agentes desecantes.. En estos ensayos se ha estudiado la influencia del tamaño de partícula, del tiempo, de la relación cantidad de muestra/superficie y de los distintos agentes desecantes en la pérdida de humedad.

2.2.1.- Material y métodos

Para el estudio de la influencia del tamaño de partícula se han realizado experiencias por duplicado con muestras de las distintas fracciones de tamaño de grano durante 6 h a 60°C, determinando la pérdida de humedad tras este tiempo de secado.

Para el estudio de la influencia del tiempo y de la relación cantidad de muestra/superficie se realizaron experiencias por duplicado con semillas molidas sin tamizar, manteniendo a 35°C placas Petri de superficie de la base 146,55 cm² (a), que contenían 20,0 y 10,0 g de muestra, y de superficie 59,45 cm² (b) con iguales cantidades de muestra. Se siguió la pérdida de humedad a través del tiempo hasta las 30 h de secado.

Para el estudio de la influencia del tiempo y de los agentes desecantes se han llevado a cabo experiencias por duplicado con muestras de 6,0 a 8,0 g de las cuatro fracciones, en placas (b), manteniéndolas a 25°C en desecador con 100 g de agente desecante (CaCl₂, H₂SO₄ y P₂O₅), siguiéndose la pérdida de humedad con el tiempo durante 21 días.

2.2.2.- Resultados experimentales

Los resultados experimentales se resumen en las tablas I, II y III.

Tabla I

Influencia del tamaño de grano en el secado

<u>Fracción</u>	<u>Pérdida media de humedad (%)</u>
1	4,5
2	5,6
3	6,7
4	6,1

Tabla II

Influencia del tiempo y la relación cantidad de muestra/superficie en el secado a 35°C

<u>Tiempo (h)</u>	<u>Pérdida media de humedad (%)</u>			
	<u>(a)</u>		<u>(b)</u>	
	<u>20,0g</u>	<u>10,0g</u>	<u>20,0g</u>	<u>10,0g</u>
1	2,7	4,5	1,8	2,7
3	5,7	7,1	4,1	6,8
7	8,1	8,6	6,9	9,0
22	9,6	9,8	9,4	10,4
30	9,7	9,8	9,7	10,6

Tabla III

Pérdida de humedad media (%) de las cuatro fracciones con el tiempo en el secado con agentes desecantes

<u>Tiempo (d)</u>	<u>H₂SO₄</u>	<u>CaCl₂</u>	<u>P₂O₅</u>
1	3,6	3,4	3,1
2	5,2	4,5	4,5
3	5,9	5,1	5,1
7	7,4	6,9	6,4
14	8,1	7,6	7,2
21	8,2	7,6	7,6

2.2.3.- Discusión de los resultados

Los resultados medios de secado recogidos en la Tabla I son bastante similares para las cuatro fracciones, tan solo hay una mayor diferencia en el caso de la fracción 1, cuya pérdida de humedad resulta algo inferior, aunque no de un modo significativo, por lo que se puede afirmar que el grado de molido de las semillas no afecta en gran medida en el secado de las mismas.

En la Tabla II, puede apreciarse que hay una notable diferencia en las primeras horas de secado a favor de las muestras de menor relación cantidad de muestra/superficie, pero a medida que transcurre el proceso, las diferencias se van reduciendo, llegandose a resultados

similares en todas las muestras.

En el secado mediante agentes desecantes, los datos obtenidos, revelaron que la pérdida de humedad fué similar para las cuatro fracciones. En la Tabla III se reseñan los valores medios de pérdida de humedad para dichas cuatro fracciones. Al comparar los resultados con los tres desecantes se observa como las pérdidas de humedad finales resultan similares, si bien parece apreciarse una pérdida de humedad ligeramente mayor con el uso de H_2SO_4 .

3.- EXTRACCION DEL ACEITE

El contenido en aceite de la pepita de uva es muy variable, diversos autores lo sitúan, para distintas variedades de uva, entre un 8 y un 21% (1), (2), (3), (4), (5).

En el estudio de la extracción se ha usado como disolvente hexano y extractores soxhlet, teniendo en cuenta el efecto de las principales variables que pueden influir en el proceso, como secado previo de la semilla molida, tamaño de grano y tiempo. También se han realizado extracciones a reflujo con agitación, estudiando el efecto que ejerce la adición de tensioactivos a la mezcla de hexano con la semilla molida sobre el rendimiento de extracción (6). Finalmente, se ha realizado una comparación entre la extracción con soxhlet y la extracción por calentamiento a reflujo con agitación magnética.

3.1.- Materiales y métodos

En todos los casos, una vez extraído el aceite en el hexano, se evaporó este en un evaporador rotatorio Buchi R 110, con baño de agua a 45°C, hasta peso constante.

Influencia del tiempo de extracción y del tamaño de partícula:

Se tomaron muestras, entre 60,0 y 80,0 g, de cada una de las cuatro fracciones de tamaño de grano, sometidas en todos los casos a un secado previo durante 6 h a 60°C, y se extrajeron con 250 ml de hexano en soxhlets de 500 ml durante diferentes tiempos.

Influencias del secado previo: Se realizaron extracciones, durante 4 y 5 h y media, de muestras entre 60,0 y 100,0 g de distintas fracciones de semilla molida, con distintos contenidos estimados de humedad. El porcentaje estimado de humedad de cada muestra se

ha calculado por diferencia entre la humedad total de la misma y la pérdida de humedad provocada en el secado.

Influencia de la escala de trabajo: Se han comparado más de veinte experiencias de extracción con dos escalas diferentes: (a) con 300 ml de hexano, en soxhlets de 500 ml, cargados con 80-100 g de muestra y (b) con 4 l de hexano, en soxhlets de 6 l, cargados con 1 Kg de muestra.

Influencia de la adición de tensioactivo: En un erlemmeyer de 2 l, provisto de un refrigerante de reflujo, se han extraído muestras de 100 g de semilla molida, en unos casos sin secar y en otros previamente secas.

El secado fué de dos tipos, 24 h a 50°C, con pérdida de humedad del 5,0%, y 24 h a 110°C con pérdida de humedad del 16,3%, considerada como humedad total de la semilla. Las extracciones se realizaron con agitación magnética constante, manteniendo la temperatura del baño a 60-64°C, y empleando en todos los casos 500 ml de hexano. Después de cada extracción se separó el líquido por filtración en buchner a vacío. Se ha estudiado el efecto de la adición de dos tensioactivos, dodecilhidrogenosulfato sódico puro, DHS (Merck) y dodecilbencenosulfonato sódico, DBS (90,3 % de materia activa). Las experiencias se llevaron a cabo por duplicado.

Comparación entre extracción con soxhlet y extracción a reflujo con agitación: Las extracciones con soxhlet (S) se llevaron a cabo con extractores de 500 ml con 300 ml de hexano. Las extracciones a reflujo con agitación magnética (R) se efectuaron en erlemmeyers de 2 l con temperatura del baño de 60-64°C y con 500 ml de hexano. Todas las extracciones se realizaron por duplicado, con 100 g de molido sin tamizar y durante 4 h y media.

3.2.- Resultados experimentales

Los resultados experimentales están recogidos en las Tablas IV, V, VI, VII y VIII.

Tabla IV

Influencia del tiempo y del tamaño de grano en la extracción

<u>t (h)</u>	<u>Aceite extraído (%)</u>			
	<u>Frac. 1</u>	<u>Frac. 2</u>	<u>Frac. 3</u>	<u>Frac. 4</u>
1	16,5	11,1	7,6	7,0
2	16,8	11,2	7,0	6,0
3	17,8	11,3	7,4	7,0
4	17,9	12,1	8,2	7,5
10	18,1	12,5	7,9	7,5

Tabla V

Influencia del secado previo en la extracción

<u>Muestra</u>	<u>Secado</u>	<u>Humedad estimada (%)</u>	<u>Aceite extraído (%)</u>
sin tamizar	no	16,9	6,1
sin tamizar	48 h a 50°	11,4	8,0
Frac. 1	6 h a 50°	13,4	16,0
Frac. 1	7 h a 60°	11,1	17,9
Frac. 2	6 h a 50°	13,4	11,4
Frac. 2	7 h a 60°	11,1	12,1
Frac. 3	6 h a 50°	13,4	6,7
Frac. 3	7 h a 60°	11,1	8,2

Tabla VI

Influencia de la escala de trabajo en la extracción

<u>Muestra</u>	<u>Secado</u>	<u>Capacidad soxhlet (l)</u>	<u>Aceite extraído (%)</u>
Frac. 3 y 4	no	0,5	3,0
Frac. 3 y 4	no	6	4,8
sin tamizar	18 h a 60°	0,5	10,5
sin tamizar	18 h a 60°	6	10,6

Tabla VII

Influencia de la adición de tensioactivos en la extracción

<u>Secado</u>	<u>DHS (% en peso)</u>	<u>DBS (% en peso)</u>	<u>Aceite extraído (% medio)</u>
no	-	-	6,6
no	0,5	-	5,9
no	-	0,5	6,4
24 h a 50°	-	-	6,6
24 h a 50°	0,5	-	6,3
24 h a 50°	-	0,5	6,6
24 h a 110°	-	-	1,2
24 h a 110°	0,5	-	0,8
24 h a 110°	-	0,5	1,2

Tabla VIII

Comparación entre extracción con soxhlet y extracción con agitación

<u>Secado</u>	<u>Tipo de extracción</u>	<u>Aceite extraído (% medio)</u>
no	S	8,2
48 h a 50°	S	10,0
no	R	6,6
48 h a 50°	R	6,6

3.3.- Discusión de los resultados

Como se pone de manifiesto en la tabla IV el tamaño de las partículas tiene gran importancia en el rendimiento de extracción, hallándose éste favorecido por el menor tamaño de las mismas. Respecto al tiempo, en la primera hora de extracción se recupera la mayor parte del aceite, incrementándose poco el rendimiento a partir de entonces.

La influencia positiva del secado previo de la semilla molida en la extracción se observa en la Tabla V. Por el contrario, según los datos de la siguiente Tabla se puede afirmar que el aumento de mas de 10 veces en la escala de trabajo no modifica el porcentaje de aceite extraído.

En la tabla VII se puede ver que no se ha encontrado aumento en el rendimiento de extracción al añadir los tensioactivos utilizados, aunque es probable que disminuyan el tiempo necesario de extracción. Por otra parte, también se puede observar en dicha Tabla que el secado exhaustivo a 110°C dificulta en gran medida la recuperación del aceite.

Los datos medios reflejados en la Tabla VIII revelan que la extracción en soxhlet es más eficaz. La diferencia de porcentaje de aceite extraído es más ostensible cuando se comparan muestras secas que muestras sin secar.

4.- DETERMINACION DE LOS PARAMETROS FISICO-QUIMICOS DEL ACEITE.

4.1.- Materiales y métodos de determinación

Se han seguido las normas oficiales UNE (7).

4.1.1.- Índice de refracción, n^{20} (UNE 55-015)

El índice de refracción se halla relacionado con la estructura molecular de la sustancia y es indicativo del grado de insaturación de un aceite.

Se ha utilizado un refractómetro modelo Atago 68141 a 20°C.

4.1.2.- Densidad, ρ^{20} (g/cm³), (UNE 55-005)

Se ha usado un picnómetro de 10 ml, calibrado con agua bidestilada y termostatado a 20°C.

4.1.3.- Viscosidad, η (cP), (UNE 55-105-73)

Además de ser un parámetro físico relacionado con la naturaleza de la sustancia, su determinación en un aceite puede considerarse como un dato indicativo de la pureza del mismo, es decir, de la completa eliminación del disolvente usado en su extracción.

Se ha medido en un viscosímetro de caída de bola (Hoeppler) Mechanik Prugerate Medingen BH2, utilizando la bola núm. 2, de 4,8011 g de peso, 16,6350 mm de diámetro, 2,399 g/cm³ de densidad y una constante K, 0,079421.

4.1.4.- Medida espectrofotométrica de la absorción en la región UV, (UNE 55-047-73)

Todas las grasas contienen al menos una pequeña cantidad

de ácido linoléico, y en el caso del aceite de semilla de uva dicha cantidad es muy elevada. Este ácido posee un dieno conjugado, cuya oxidación da un hidroperóxido que absorbe sobre los 232 nm. Por consiguiente, la extinción específica a esa longitud de onda es un índice del contenido de estos hidroperóxidos. Sin embargo, cuando prosigue la oxidación aparecen diacetonas y cetonas insaturadas, que absorben alrededor de los 270 nm. Por ser estos compuestos mucho más estables que los hidroperóxidos, esta medida de la oxidación es bastante más exacta que la primera (8).

Los valores de la absorción se dan en forma de extinción específica a la longitud de onda dada, K. Se ha medido en un espectrofotómetro Perkin Elmer mod. Coleman 575 a las dos longitudes de onda consideradas, 232 y 270 nm.

4.1.5.- Acidez libre (UNE 55-011)

Quizás sea ésta una de las características químicas que mejor definen la calidad de un aceite, pues representa el deterioro hidrolítico a que ha sido sometido. La acidez, a partir de un cierto límite, constituye un inconveniente para su empleo en alimentación. Se expresa el grado de acidez en porcentaje de ácido oleico.

4.1.6.- Índice de iodo (UNE 55-013)

La adición de iodo a un aceite es una expresión cuantitativa del grado de insaturación del mismo.

4.1.7.- Índice de saponificación (UNE 55-012)

Este índice, al ser una medida de los ésteres presentes en el aceite, se encuentra relacionado con el peso molecular medio del mismo. Es tanto mayor cuanto menor sea la cadena de los ácidos grasos que componen el aceite. Ello, unido a la propiedad de ser un índice aditivo en las mezclas de los aceites, es lo que le confiere su importancia como indicador de la pureza de éstos (8).

4.1.8.- Insaponificables (UNE 55-004-73)

Esta fracción constituye el porcentaje de materia orgánica no grasa, como hidrocarburos, estéroles, alcoholes alifáticos y terpénicos, etc., que forman parte del aceite.

4.1.9.- Índice de peróxidos (UNE 55-023-73)

Las moléculas de peróxidos en un aceite son hidroperóxidos o epiperóxidos de los ácidos grasos con una molécula de oxígeno activo de la cual un sólo oxígeno es activo frente a los ioduros en iodo. Dado que los hidroperóxidos rápidamente se transforman en sustancias diferentes, el índice de peróxidos es una determinación que trata de evaluar el estado de oxidación inicial de un aceite.

Por otro lado, el índice de peróxidos también indica paralelamente el deterioro que pueden haber sufrido ciertos componentes del aceite, como los tocoferoles (con valor nutritivo) y los polifenoles (con acción antioxidante). Esto, unido a que detecta el estado de oxidación antes que organolépticamente sea perceptible por no haberse formado aún los compuestos carbonílicos y a la facilidad de su ejecución, es lo que sustenta su valor como índice de calidad, a pesar de su poca representatividad del estado global de oxidación de un aceite. En este último sentido, se complementa con el valor de la absorción a 270 nm (8).

4.2.- Resultados experimentales

Los resultados experimentales de las medidas de los parámetros físico-químicos para muestras de aceite procedentes de las cuatro fracciones de semilla molida, así como de molido sin tamizar, sin secar y seco, se encuentran recogidos en la Tabla IX.

Tabla IX

Parámetros físico-químicos del aceite

Determinaciones realizada a 20 °C

	<u>Frac. 1</u>	<u>Frac. 2</u>	<u>Frac. 3</u>	<u>Frac. 4</u>	Molido <u>sin secar</u>	Molido <u>seco</u>
Indice de refracción	1,4576	1,4548	1,4549	1,4585	1,4606	1,4568
Densidad	0,9220	0,9172	0,9222	0,9160	0,9005	0,9230
Viscosidad(cP)	24,214	27,723	33,883	29,722	19,147	38,529
Absorbancia a 232 nm	6,64	6,31	6,73	6,56	3,54	6,80
Absorbancia a 270 nm	0,96	0,83	1,06	0,86	1,23	1,30
Grado acidez	5,17	3,80	4,24	4,65	9,45	4,89
Indice acidez	10,28	7,56	12,78	9,24	18,81	9,74
Indice iodo	106,86	81,74	91,79	106,34	106,83	84,31
Indice de saponificación	145,98	138,82	141,41	150,12	155,65	167,78
Insaponif.(%)	0,56	2,39	2,47	2,98	0,71	0,57
Indice de peróxidos	63,28	53,56	220,06	196,14	130,35	8,44

4.3.- Discusión de los resultados

Los valores de los parámetros físico-químicos del aceite de semilla de distintas variedades de uva encontrados en la bibliografía presentan un amplio rango de variación. Este hecho se produce también cuando comparamos los valores que se han obtenido para los aceites de semilla de uva Palomino procedentes de las diferentes fracciones de tamaño de grano entre sí y con el molido sin tamizar.

Los índices de refracción resultan algo inferiores a los descritos en la bibliografía (2), (4), (5), (9), (10), (11), (12), en la que se hallan valores entre 1,4707 y 1,4790. El rango para la variedad Palomino se encuadra entre 1,4548 y 1,4606 a 20°C.

Sin embargo, los valores de la densidad, aún siendo ligeramente inferiores a los descritos con anterioridad, se asemejan mucho más a los observados por otros autores para aceites de semilla de otras variedades de uva (5), (9), (10), (11), (12), cuyos valores abarcan de 0,917 a 0,925. La densidad a 20°C del aceite procedente de la semilla molida sin tamizar y seca, que sería la muestra más similar a las estudiadas en la bibliografía, es de 0,9230, valor que está dentro del rango antes indicado.

La viscosidad medida resulta también algo menor que las citadas por otros autores para variedades distintas de uva (9), (10), (11). Así, estos autores la determinan entre 51 y 60 cP, mientras que el valor obtenido para esta variedad jerezana es de 38,5 cP, para el aceite procedente de la semilla molida sin tamizar y seca.

La absorción a 232 nm para el aceite procedente de la semilla molida sin tamizar ni secar, 3,54, coincide prácticamente con el valor de 3,64 hallado en la bibliografía (11). Para las demás muestras los valores son sensiblemente superiores. Por el contrario, las absorciones a 270 nm de muestras de aceite, 0,83 a 1,30, son menores a las citadas por otros autores (11).

El índice de acidez es, posiblemente, junto con el índice de peróxidos, que se comentará más adelante, el parámetro que mayor variabilidad presenta para los aceites procedentes de semillas de diversas variedades de uva (2), (4), (5), (9), (10). Así, si bien los valores mas frecuentes no pasan de 20, se pueden encontrar incluso valores superiores a 100. El valor más alto medido ha sido de 18,81, correspondiente a aceite extraído de semilla molida sin tamizar ni secar.

Los índices de iodo que se han determinado, con valores comprendidos entre 81,14 y 106,86 son, en general, inferiores a los citados por los diversos autores (2), (4), (5), (9), (10), (12). No obstante, se encuadran prácticamente dentro de los valores encontrados en la bibliografía, que van de 86 a 142.

Tal como se viene repitiendo en la mayoría de las constantes físico-químicas, el índice de saponificación del aceite de uva Palomino resulta menor que el hallado para aceites de semilla de otras variedades de uva (4), (5), (9), (10), (11), (12), cuyo valor oscila entre 177,8 y 198,0. El valor más próximo es, como viene sucediendo también para la mayoría de los parámetros, el del aceite procedente de la semilla molida y seca sin tamizar.

El porcentaje de materia insaponificable contenido en las muestras de aceite estudiadas se encuentra en concordancia con los datos suministrados por otros autores, generalmente no superior a 3%, para aceites de semilla de otras variedades de uva (2), (4), (5), (9), (10). Los valores medidos para aceite de semilla de uva Palomino oscilan entre 0,56 y 2,98.

Por último, tal como se citó anteriormente, el índice de peróxidos presenta también un amplio margen de variación. Existen pocos datos en la bibliografía respecto a este parámetro (11), pero el que más se asemeja es el aceite procedente de semilla molida, seca y sin tamizar.

En conclusión, observando los parámetros físico-químicos de las distintas muestras de aceite de semilla de uva Palomino, parece claro que las que más se asemejan a los aceites procedentes de otras variedades de uva estudiadas por diversos autores (variedades Pinot, Sanjuanina, Isabella, Fayoumi, Berzelanza, Moskat, Bobal, etc.) son, las procedentes de la semilla molida sin tamizar, y dentro de éstas, las de semilla seca.

5.- COMPOSICION EN ACIDOS GRASOS DEL ACEITE

Se ha realizado la determinación cualitativa y cuantitativa de los ácidos grasos presentes en el aceite siguiendo la norma UNE 55-037-73 (7), que señala un método basado en la preparación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos, ya que dichos ésteres poseen un punto de ebullición menor que el de sus ácidos correspondientes, lo que hace posible su análisis mediante cromatografía de gases.

5.1.- Material y métodos

El cromatógrafo de gases utilizado ha sido un Perkin Elmer Sigma 3B, equipado con un registrador Recorder 159, y una columna

de vidrio con fase estacionaria de Carbowax 20 M 15% sobre Cromosorb W 80-100. La identificación de los picos del cromatograma se ha realizado, por comparación con los correspondientes tiempos de retención medidos en los cromatogramas de muestras patrones (Merck) de los respectivos ésteres metílicos disueltos en hexano de pureza cromatográfica. Los cromatogramas fueron realizados en las siguientes condiciones de trabajo: Gas portador: nitrógeno (40 ml/min.). Temperatura de inyector: 250°C. Temperatura del detector: 250°C. Temperatura de la columna: 185°C. Rango: 10. Atenuación: 256. Velocidad del papel: 0,5 cm/min. Volumen de muestra: 2 l.

5.2.-Resultados y discusión

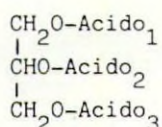
Los porcentajes determinados de los diversos ácidos grasos, que se recogen en la tabla X, son similares a los valores hallados en la bibliografía para aceites de semilla de distintas variedades de uva (4), (5), (9), (10), (11), (13), (14), (15). Estos aceites se caracterizan por un alto contenido en ácido linoléico y una ausencia casi total de ácido linolénico, lo que mejora el sabor del mismo. También tienen un bajo contenido en ácidos saturados, los cuales cuando se hallan presentes en una elevada proporción pueden depositarse en las paredes de las arterias originando ateromas que obstruyen los vasos sanguíneos y que podrían ser causas de posterior arteriosclerosis, trombosis o infarto de miocardio. Debido a estos porcentajes, el aceite de semilla de uva Palomino se puede considerar efectivamente como de buenas propiedades dietéticas.

Tabla X

Composición en ácidos grasos del aceite (%)

Ac. palmítico	(C _{16:0})	8,1
Ac. palmitoléico	(C _{16:1})	0,1
Ac. esteárico	(C _{18:0})	5,4
Ac. oléico	(C _{18:1})	19,1
Ac. linoléico	(C _{18:2})	67,0
Ac. linolénico	(C _{18:3})	0,3

Según los datos de composición señalados en la Tabla X y considerando el aceite constituido exclusivamente por triglicéridos tipo:



en los que los ácidos 1, 2 y 3 pueden ser iguales o diferentes, se puede estimar un peso molecular medio de 874,4 para el mismo.

Siguiendo con esta consideración, el número de insaturaciones medio por molécula tipo sería de 4,6, mientras que utilizando el valor de 84,31 para el índice de iodo de la muestra (ver Tabla IX) se llega a un número de 5,8 insaturaciones por molécula tipo. Esto es bastante razonable si se tiene en cuenta que además de las insaturaciones propias de los triglicéridos existirán otras debidas a componentes minoritarios del aceite que eventualmente adicionarían algo de iodo.

6.- BIBLIOGRAFIA

- (1).- TURU CASADO, H.; "Aceite de pepita de uva, presente, pasado y futuro", Murcia (1982).
- (2).- SANTOS RUIZ, A. y SANZ MUÑOZ, M.; Rev. de Biol. de Inst. Cajal, 2 93 (1945).
- (3).- BERNARDINI, E.; "Tecnología de aceites y grasas", Ed. Alhambra (1981).
- (4).- EL-ZEANY, B.A., ABDEL KAWY, M. y AMER, M. M.; Grasas y Aceites, 33 (3), 158 (1982).
- (5).- BERTONI, M. y KARMAN DE SUTTON, G.; Anales Asoc. Quím. Argent., 54 89 (1966).
- (6).- FLORES LUQUE; V.; "Estudio de la extracción del aceite de orujo". Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla (1967).
- (7).- Norma Española. Instituto Nacional de Racionalización y Normalización (IRANOR).

- (8).- BURON ARIAS, I. y GARCIA TERESA, R.; "La calidad del aceite de oliva". Publicaciones del Inst. Nacional de Investigaciones Agrarias (INIA), (1979).
- (9).- KINSELLA, J.E.; Food Technology, 28, 58 (1974) y las referencias que allí se citan.
- (10).- KINSELLA, J.E.; Cosmet. Toiletries, 91, 19 (1976).
- (11).- RAMEL, P., LANTEUME, M., RAMAN, J. y MOREL, E.; Rev. Franc. Corps. Gras., 12, 517 (1965).
- (12).- GERASIMOV, M. y TASAMEV, D.; Maslozhir. Prom., 27, 13 (1961).
- (13).- MIRIC, M., LALIC, Z. y MILETIC, I.; Hrama Ishrama, 18, (5-6), 227 (1977). C.A. 88, 3101 m (1978).
- (14).- CAPELLA, P., LERCKER, G. y TISCORMIA, E.; Riv. Ital. Sostanze Grasse, 56, 297 (1979).
- (15).- EL-ZEANY, B.A., ABDEL DAWY, M. y AMER, M. M.; Grasas y aceites, 33, (4), 212 (1982).

"CONTENIDO CATIONICO DEL JUGO DE UVA (VITIS VINIFERA, "PEDRO XIMENEZ")
EN RELACION CON LA DISTRIBUCION GEOGRAFICA DEL MARCO MONTILLA-MORILES"

Medina Carnicer, M.; Moreno Vigara, J.; González Fernández, J.L. y
Mérida García, J.

Departamento de Química Agrícola. Universidad de Córdoba.

I. RESUMEN

En el presente trabajo se analiza la alcalinidad de cenizas y el contenido en cationes (K, Na, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn y Cu) de muestras de jugo de uva de la variedad Vitis Vinifera "Pedro Ximenez" sobre portainjertos Chasselas x Berlandieri 41-B. Las muestras se tomaron de 9 parcelas con distintos tipos de suelos representativos del marco Montilla-Moriles, en tres fechas de la evolución del fruto (uva verde, terminación del envero y madurez).

Con los resultados obtenidos se realiza un análisis de índices de similitud (cluster) para cada una de las fechas seleccionadas. Puede observarse que las distintas uniones entre las muestras no se corresponde con el tipo de suelos sobre el que asientan. También cabe destacar que en el transcurso del tiempo, y a medida que avanza la maduración, la disimilitud entre las muestras es más acentuada. Finalmente, si bien en la primera fecha no existen nítidas diferencias entre las zonas de Producción y Superior Calidad delimitadas por el Consejo Regulador de Denominación de Origen del marco, a medida que transcurre la maduración las parcelas se van agrupando por zonas, llegándose en la vendimia a distinguir las muestras recogidas en zona de Producción y Superior Calidad, e incluso dentro de ésta las del término de Moriles y las de Montilla.

II. INTRODUCCION

La ausencia de datos analíticos sobre características de la variedad Vitis Vinifera "Pedro Ximenez" en las peculiares condiciones edáficas y climáticas de la zona Montilla-Moriles llevaron al Departamento de Química Agrícola de la Facultad de Ciencias de Córdoba, a iniciar en el año 1980 una serie de estudios encaminados a la caracte-

rización del suelo (SANCHEZ et al., 1983), del fruto (MORENO et al., 1983) y vinos (ORDOÑEZ et al., 1983) de esta comarca de la provincia de Córdoba.

En el presente trabajo se intenta encontrar una relación del contenido catiónico del jugo de la uva, con el tipo de suelo y con las zonas de Producción y Superior Calidad delimitados por el Consejo Regulador de Denominación de Origen Montilla-Moriles. Con este objetivo, y continuando la línea establecida en trabajos anteriores (TIRADO et al., 1983; MEDINA et al., 1983) se utiliza un tratamiento matemático (cluster) mediante el que se obtienen resultados satisfactorios.

III. MATERIAL Y METODOS

El material vegetal utilizado ha sido fragmentos de racimos de 3-4 bayas de la variedad Vitis Vinifera sobre portainjertos Chasselas x Berlandieri 41-B. La toma de muestras se efectuó según la técnica descrita por PEINAUD (1938), sobre las cepas de 9 parcelas, cuya numeración se corresponde con los siguientes tipos de suelos: 1 y 8 Suelos rojos; 2 y 9 Vertisoles pardos; 3, 4, 5 y 7 Rendzinas; 6 Vertisol negro.

Se eligieron tres fechas de toma de muestra correspondientes a distintos estadios del desarrollo del grano de uva. La primera (21-Julio-1980) corresponde a la uva aún verde, la segunda (11-Agosto-1980) a la terminación del envero, y la última (11-Septiembre-1980) a la madurez.

En el jugo obtenido mediante prensado de las uvas, se determinó, previa mineralización de la muestra, la alcalinidad de las cenizas según el método de la O.I.V. (1969) y el contenido en K, Na, Mg, Ca, Fe, Mn, Zn y Cu, por espectrofotometría de absorción atómica. Con los resultados obtenidos se efectuaron los dendogramas de índices de similitud, siguiendo criterios de SNEATH y SOKAL (1973) para el cálculo de distancias euclídeas.

IV. RESULTADOS Y COMENTARIOS

Las Tablas I, II y III presentan los contenidos en elementos minerales de 1000 granos de uva en las 3 fechas de estudio.

TABLA: I

Fecha: 21-Julio-1.980

CONTENIDO CATIONICO DEL JUGO DE UVA DE 1.000 UVAS. LOS RESULTADOS SE EXPRESAN EN MILIGRAMOS, EXCEPTO LA ALCALINIDAD DE LAS CENIZAS, EXPRESADA EN MILIEQUIVALENTES.

Muestra	Alc.	K	Na	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu
1	16,85	271,55	24,63	56,47	15,02	0,36	0,16	0,24	0,22
2	14,78	358,06	30,28	67,37	20,44	0,29	0,26	0,19	0,19
3	11,77	344,59	35,30	81,35	19,95	0,27	0,16	0,12	0,31
4	9,26	277,50	27,75	65,65	27,75	0,29	0,62	0,32	0,36
5	9,96	313,23	24,34	60,59	20,02	0,48	0,31	0,56	0,15
6	11,48	519,71	37,23	85,40	30,66	0,92	0,551	0,64	0,23
7	18,63	562,24	40,09	111,88	38,23	0,90	0,64	0,46	0,15
8	34,92	584,65	45,73	102,34	32,66	0,74	0,30	0,58	0,25
9	19,46	795,28	45,93	135,17	51,18	0,79	0,97	0,56	0,67
\bar{x}	15,68	447,42	34,59	855,14	28,43	0,556	0,44	0,41	0,21
s	8,09	178,40	8,37	26,57	11,31	0,28	0,27	0,19	0,16
% Var.	51,59	39,87	24,20	31,21	39,78	50,00	61,36	46,34	57,14

TABLA: II

Fecha: 11-Agosto-1.980

CONTENIDO CATIONICO DEL JUGO DE 1000 UVAS. LOS RESULTADOS SE EXPRESAN EN MILIGRAMOS, EXCEPTO LA ALCALINIDAD DE LAS CENIZAS, EXPRESADA EN MILIEQUIVALENTES.

Muestra	Alc.	K	Na	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu
1	38,60	1350,68	88,23	187,78	56,56	1,06	0,59	0,99	1,09
2	34,76	1111,11	53,18	140,50	51,28	1,54	0,85	0,99	0,47
3	43,03	1354,51	75,82	157,79	40,98	1,58	0,49	0,78	0,75
4	31,65	1206,19	59,79	146,39	43,30	1,92	1,03	1,44	1,05
5	39,49	1413,00	63,10	164,44	55,45	1,70	0,82	0,69	0,59
6	33,71	1311,89	118,91	150,10	48,73	2,07	0,80	0,70	0,49
7	38,04	1016,36	55,82	165,54	59,67	1,87	0,82	1,40	0,31
8	58,05	1612,83	102,14	182,90	47,51	1,52	0,71	0,59	0,66
9	39,37	1229,15	82,36	162,62	57,02	1,96	1,01	1,06	0,59
\bar{x}	39,63	1289,52	77,74	162,01	51,17	1,69	0,79	0,96	0,67
s	7,72	175,10	22,52	15,75	6,51	0,31	0,18	0,31	0,26
% Var.	19,48	13,58	28,97	9,72	12,72	18,34	22,78	32,29	38,81

TABLA: III

Fecha: 11-Septiembre-1.980

CONTENIDO CATIONICO DEL JUGO DE 1000 UVAS. LOS RESULTADOS SE EXPRESAN EN MILIGRAMOS, EXCEPTO LA ALCALINIDAD DE LAS CENIZAS, EXPRESADA EN MILIEQUIVALENTES.

Muestra	Alc.	K	Na	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu
1	78,08	2563,57	144,33	195,88	79,04	1,20	0,89	1,61	1,44
2	46,31	1492,46	48,58	100,50	50,25	1,36	0,59	1,37	0,52
3	65,29	2436,79	100,19	146,55	60,34	1,49	0,75	2,38	1,15
4	36,55	1186,78	74,71	137,93	57,47	2,21	0,92	1,67	1,47
5	59,17	2073,63	128,27	121,14	61,76	2,80	0,83	0,85	0,66
6	51,86	1664,04	146,98	112,86	52,49	2,23	0,89	0,68	0,73
7	66,91	1831,14	65,96	126,65	60,69	1,58	0,84	0,61	0,50
8	72,43	2424,14	137,93	137,93	58,62	1,34	0,83	1,07	1,07
9	88,55	3197,30	111,30	161,89	87,69	1,45	1,38	1,11	1,05
\bar{x}	62,79	2096,62	107,47	137,93	63,15	1,74	0,88	1,26	0,95
s	16,23	622,78	36,34	28,38	12,26	0,54	0,21	1,12	0,37
% Var.	25,85	29,70	33,81	20,58	19,30	31,03	23,86	88,89	38,95

Como corresponde a los procesos generales de maduración, el grano de uva incrementa su contenido en cationes a medida que avanza en su estadio vegetativo, debido a la acumulación de los productos de reserva, que sintetizados en las hojas, se transportan hacia el fruto.

El catión mayoritario en el jugo de uva en las tres fechas de estudio es el K, que interviene en la migración de los glúcidos hacia los órganos de reserva y en su almacenamiento como azúcares o almidón, y en la acumulación de los iones orgánicos por salificación, aparte de otras importantes funciones como activador de enzimas.

En segundo lugar, el Ca es el elemento más abundante, justificándose su elevado contenido por el importante papel que desempeña en la organización citoplasmática y en el mantenimiento de la función de las membranas celulares, lo que podría influir grandemente en numerosas actividades enzimáticas (MILLER, 1973)). También contribuye a asegurar el equilibrio necesario en la savia frente a los ácidos orgánicos y minerales, desempeñando a la vez un papel antitóxico frente a excesos de K, Na ó Mg (BOUARD y POUGET, 1971; MILLER, 1973).

El Na sigue en importancia, en cuanto a contenidos al Ca. Según DELMAS (1971) el Na no parece ser un elemento esencial en la vid, pero puede tener efectos positivos en los casos de alta acidez.

Por último, entre los elementos mayoritarios, se encuentra el Mg, componente de la clorofila y activador de numerosas enzimas implicadas en la respiración, fotosíntesis y en la síntesis de ácidos nucleicos. Sin embargo, aún se conoce poco sobre las diversas utilidades del Mg en las plantas, particularmente en la vid, si bien su presencia es necesaria en un elevado nivel, en la alimentación de esta planta.

Los restantes elementos Fe, Cu, Mn y Zn, se encuentran en menores concentraciones, muy próximas entre sí. Su importancia se basa en la actuación en diversos sistemas redox y en su función activadora de diferentes enzimas.

En general, desde la primera fecha de estudio hasta la última, el contenido en los cationes analizados del jugo de uva aumentan paulatinamente. Es de destacar que los coeficientes de variación (ex-

presados en porcentaje), son mayores en la primera fecha y en la última que en la segunda. Esta observación alcanza gran significación por ser esta fecha la de finalización del envero, lo que pone de manifiesto la homogeneidad con que este fenómeno vegetativo se produce en las distintas parcelas de la zona de estudio. Para el año 1.980, y en base a datos analíticos, el envero medio se fijó en la fecha 5 de Agosto (MORENO et al., 1983).

Por lo general, los estudios existentes en cuanto a materias minerales en el fruto de la vid se han limitado a la determinación de la alcalinidad y el peso de cenizas en las distintas partes del mismo, como medio de conocer el contenido y evolución de los cationes, y según RIBERAU-GAYON et al. (1975), la evolución de los mismos en el curso de la maduración ha sido poco estudiada.

El conjunto de los elementos minerales, expresado por la alcalinidad de las cenizas, experimenta un aumento continuo durante todo el período de estudio, así en la primera fecha se obtiene un valor medio de 15,68 m.e.q./1000 granos, siendo de 39,63 en el envero y 62,79 m.e.q./1000 granos en la madurez.

El Potasio, componente mayoritario en las cenizas del jugo de uva, sigue una evolución paralela a la alcalinidad de las mismas, observándose unos contenidos que oscilan entre 271 y 795 mgr./1000 granos en la primera fecha. En la segunda fecha dichos contenidos varían entre 1016 y 1612 mgr./1000 granos, alcanzando en la última valores comprendidos entre 1186 y 3197 mgr./1000 granos.

Por otro lado, el Na, al igual que el K, presenta una evolución ascendente en sus contenidos, obteniéndose los siguientes valores medios en las tres fechas de estudio: 34,59; 77,74 y 107,47 mgr./1000 granos. Tanto Na como K son elementos particularmente móviles en la dinámica interna de la vid, por lo que sus perfiles de evolución son muy semejantes.

El Ca, segundo elemento en importancia en cuanto a contenido en el jugo de uva, presenta en la fecha del 21 de Julio, niveles comprendidos entre los 56 y 135 mgr./1000 granos; en el 11 de Agosto los valores oscilan entre 140 y 187, y por último, el 11 de Septiembre en-

tre 100 y 195 mgr./1000 granos; como puede observarse en las tablas correspondientes, el contenido medio disminuye desde un valor de 162,01 mgr./1000 granos al fin del envero (11 de Agosto) a la madurez fisiológica (11 de Septiembre) en que alcanza un valor de 137,93 mgr./1000 granos.

Los niveles de Mg aumentan paulatinamente en el jugo de uva a lo largo del período de estudio, desde 28,43 en la primera fecha, hasta 63,15 mgr./1000 granos en la última.

Los restantes elementos considerados en el presente estudio, se encuentran muy interrelacionados entre sí por los efectos competitivos que poseen unos sobre otros. El Fe se encuentra en mayor proporción que Mn, Zn y Cu, presentando unos contenidos medios que oscilan entre los 0,56 mgr./1000 granos en la primera fecha y los 1,74 mgr./1000 granos de la última, obteniéndose en el envero un valor promedio de 1,69 mgr./1000 granos, lo que pone de manifiesto una estabilización de su evolución a partir del fenómeno vegetativo del envero.

El Mn alcanza un contenido medio de 0,44 mgr./1000 granos en la primera fecha, obteniéndose en las dos restantes valores próximos a 0,80 mgr./1000 granos. Por otro lado, el Zn comienza con un contenido de 0,41 mgr./1000 granos en la fecha anterior al envero y alcanza en la madurez 1,12 mgr./1000 granos.

Por último, el Cu presenta un valor medio, para las 9 parcelas, en el 21 de Julio de 0,28 mgr./1000 granos, siendo de 0,67 en el 11 de Agosto y terminando con un contenido de 0,95 mgr./1000 granos en el 11 de Septiembre, fecha de madurez fisiológica de la uva.

Tanto Fe, como Mn, Zn y Cu, presentan contenidos muy semejantes en el jugo de 1000 uvas. No obstante, el Fe predomina sobre los demás, alternando los tres cationes restantes su predominio según el estado de madurez de la uva.

La mayor variación presentada para las 9 muestras en la fecha de vendimia permite clasificar las parcelas estudiadas dentro de las dos grandes zonas que el Consejo de la Denominación de Origen Montilla-Moriles reconoce en el citado marco: Zona de Producción y Zona de Superior Calidad.

Como puede deducirse en las Tablas correspondientes, el contenido medio aumenta del fin del envero a la madurez en un 58,44% para la alcalinidad de las cenizas, un 62,59% para el K, el 38,24% para el Na; 23,41 para Mg; 2,96 para Fe; 11,39 para Mn; 31,25 para Zn y 28,00% para Cu. El Ca experimenta un descenso de 14,86% entre las fechas citadas.

Por otra parte, se efectuaron tres dendogramas de índices de similitud para los contenidos en elementos minerales en la fecha anterior al envero (Figura 1), en la fecha de finalización del envero (Figura 2) y en la fecha de madurez (Figura 3) de las nueve parcelas seleccionadas.

En primer lugar, se observa que las distintas uniones entre las muestras no se corresponde con el tipo de suelo sobre el que se asientan. Lo que parece lógico, si se considera que las raíces de la vid prospectan hasta aproximadamente 1,25 metros (BOUARD, 1971), y a partir de 35-40 cm., estos suelos presentan un sustrato calizo de muy parecidas características.

También cabe destacar que con el transcurso del tiempo, y a medida que avanza la maduración, la disimilitud entre las muestras es más acentuada, apreciándose que la muestra de la parcela 1 es la que presenta mayor diferenciación en su comportamiento respecto de las restantes en la fecha de finalización del envero, aumentando hasta la fecha de maduración.

Finalmente, si bien en la primera fecha no existen nítidas diferencias entre las zonas de Producción y Superior Calidad del marco, a medida que transcurre el fenómeno de la maduración las parcelas se van agrupando por zonas, llegándose en la vendimia a distinguir zonas de Producción y Superior Calidad, e incluso dentro de ésta, la del término de Moriles y la de Montilla.

V. BIBLIOGRAFIA

- (1).- BOUARD, J. "Tissus et organes de la vigne". En: Ribereau-Gayon, J. y Peynaud, E. "Sciences et techniques de la vigne" T-1 (1971)
- (2).- BOUARD, J. y POUGET, R. "Physiologie générale de la vigne". En: Ribereau-Gayon y Peynaud. Ed. Dunod. (1971).

- (3).- DELMAS, J. "Fertilisation de la vigne". En: "Sciences et techniques de la vigne". Ribereau-Gayon y Peynaud. Ed. Dunod. (1971).
- (4).- MEDINA, M.; MORENO, J.; GONZALEZ, J.L. y MERIDA, M. Vª Jornadas de Viticultura y Enología de Tierra de Barros (Almendralejo, Badajoz). (1983).
- (5).- MILLER, L.P. "Phytochemistry" Vol I, II y III Ed. V.N.R. (1973).
- (6).- MORENO J.; MEDINA, M.; CORRAL, L.; PANEQUE, G. Anal. Edaf. Agrob XLII, 1-2, p-207 (1983)
- (7).- MORENO, J.; MEDINA, M.; CORRAL, L.; PANEQUE, G. Anal. Edaf. Agrob. XLII, 1-2, p-217.
- (8).- MORENO, J.; MEDINA, M.; CORRAL, L.; PANEQUE, G. Anal. Edaf. Agrob. XLII, 1-2, p-227. (1969)
- (9).- O.I.V. "Bulletin d'analyse". (1969).
- (10)- ORDOÑEZ, R.; PANEQUE, G.; MEDINA, M.; CORRAL, L. Anal. Edaf. Agrob. (En prensa)
- (11)- ORDOÑEZ, R.; PANEQUE, G.; MEDINA, M.; CORRAL, L. Anal. Edaf. Agrob. (En prensa).
- (12)- PEYNAUD, E. Soc. Sci. Phis. Nat. Bordeaux. (1938).
- (13)- SANCHEZ, I.; GIL, J.; CORRAL, L.; MEDINA, M.; PANEQUE, G. Anal. Edaf. Agrob. XLII, 1-2, p-105 (1983).
- (14)- SANCHEZ, I.; GIL, J.; CORRAL, L.; MEDINA, M.; PANEQUE, G. Anal. Edaf. Agrob. XLII, 1-2, p-115 (1983)
- (15)- SANCHEZ, I.; GIL, J.; CORRAL, L.; MEDINA, M.; PANEQUE, G. Anal. Edaf. Agrob. XLII, 1-2, p-127 (1983)
- (16)- SANCHEZ, I.; GIL, J.; CORRAL, L.; MEDINA, M.; PANEQUE, G. Anal. Edaf. Agrob. XLII, 1-2, p-139 (1983)
- (17)- SNEATH, P.A. y SOKAL, R.R. "Numerical Taxonomy" W.H. Freeman and Co. San Francisco (1973).
- (18)- TIRADO, J.L.; MORENO, J.; MEDINA, M.; CORRAL, L.; MEDINA, M.; PANEQUE, G. Anal. Edaf. Agrob. (En prensa).

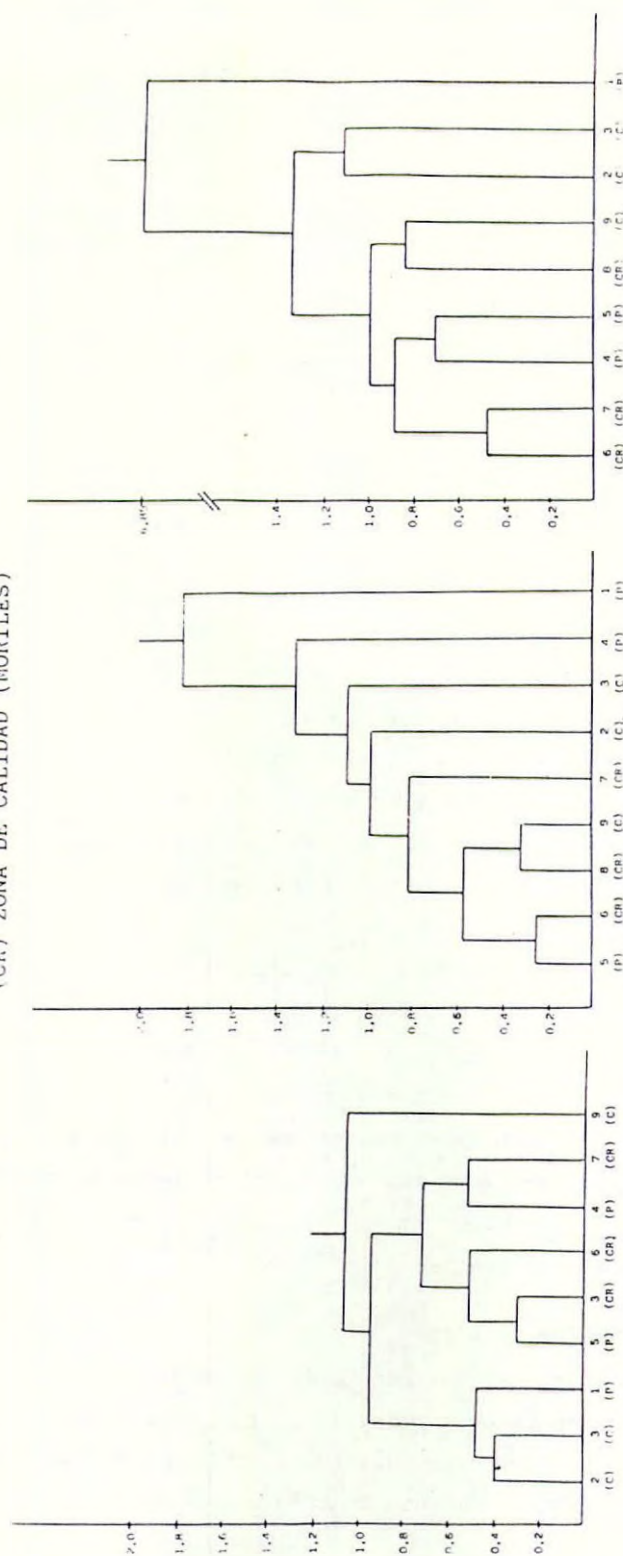


Fig. 1. Dendograma correspondiente a la fecha anterior al envero.

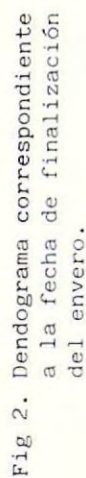


Fig. 3. Dendrogram correspondiente a la fecha de madurez.

CARACTERISTICAS DE NUEVAS VARIEDADES DE VID OBTENIDAS POR HIBRIDACION

García de Luján, A.; Morales Godínez, M.; Garrido Quijano, A y Lara Benítez, M.

Departamento de Viticultura y Enología de Jerez. Servicio de Investigación Agraria de la Junta de Andalucía.

1.- RESUMEN

Se presentan una serie de datos relativos a los cruzamientos genéticos realizados en el Departamento de Viticultura y Enología de Jerez de la Frontera a lo largo de varios años.

De las nuevas variedades de vid que ofrecen mayor interés se incluyen sus descripciones ampelográficas, así como datos sobre su comportamiento en el campo, producciones, graduaciones Baumé de sus mostos, etc.

2.- INTRODUCCION

Uno de los métodos de mayor interés y más utilizado en la mejora de plantas es el del cruzamiento o hibridación entre individuos distintos. A través de la multiplicación sexual de la vid se obtienen descendencias que tienen características de sus progenitores en proporciones fijadas por los condicionamientos genéticos del cruce. Esta operación se lleva a cabo normalmente en centros especializados y son numerosos los resultados obtenidos en el caso de la vid, entre ellos la mayor parte de los portainjertos actuales y variedades de uva de mesa cultivadas a nivel internacional.

El Departamento de Viticultura y Enología de Jerez de la Frontera ha realizado a lo largo de su existencia un buen número de hibridaciones en vid, proporcionando nuevos individuos de los que en esta comunicación ofrecemos sus características de mayor interés. Como la cantidad de individuos obtenidos es muy elevada, nos limitaremos a analizar las más relevantes.

3.- HIBRIDACIONES REALIZADAS

El material al que nos referimos en la presente comunicación procede de las series de hibridaciones que señalamos a continuación, advirtiendo que los cruces e individuos indicados son los que perduran en la actualidad. En su momento se obtuvo un material más numeroso que

ha ido desapareciendo por falta de valor.

Serie 1ª: portainjertos EVEX (Estación de Viticultura y Enología de Xerez). Cruces: 4. Individuos: 45. Realizados a partir de 1943.

Serie 2ª: vinífera EVEX. Cruces: 9. Individuos: 55. Realizados a partir de 1943.

Serie 3ª: vinífera DEVEJ-72 (Departamento de Viticultura y Enología de Jerez-año 1972). Cruces: 45. Individuos: 135. Realizados en 1971 y 1972.

Serie 4ª: uva de mesa DEVEJ-79. Cruces: 50. Individuos: 549. Realizados en 1979.

Serie 5ª: viníferas DEVEJ-80. Cruces: 51. Individuos: 718. Realizados en 1980.

Serie 6ª: viníferas DEVEJ-82. Cruces: 21. Realizados en 1982.

Serie 7ª: viníferas DEVEJ-83. Cruces: 11. Realizados en 1983.

3.1.-Serie 1ª: portainjertos EVEX.

A partir de 1943, Fernández de Bobadilla llevó a cabo un programa de obtención de nuevos portainjertos de vid. Resultado de sus trabajos fueron los siguientes grupos de portainjertos:

Grupo 10: descendencia del 161-49: 10-G, 10-H y 10-V.

Grupo 11: Berlandieri Resseguir nº 2 x Palomino fino: 11-4A, 11-4B, 11-BB, 11-3C, 11-4C, 11-C, 11-3D, 11-3E, 11-F, 11-FF, 11-3G, 11-1, 11-GG, 11-3J, 11-3, 11-JJ, 11-3K, 11-K, 11-L, 11-11, 11-M, 11-MM y 11-FF.

Grupo 13: descendencia del Berlandieri Resseguir nº 2: 13-1, 13-3, 13-5, 13-9, 13-14, 13-16, 13-22, 13-25, 13-28, 13-32, 13-42 y 13-44.

Grupo 14: Berlandieri Resseguir nº x 19-62: 14-D, 14-E, 14-F, 14-F, 14-G, 14-H, 14-L y 14-M.

3.2.-Serie 2ª: viníferas EVEX.

A partir de 1943, Fernández de Bobadilla realizó una serie de hibridaciones entre viníferas tradicionales de la zona de Jerez, obteniendo los siguientes grupos:

Cruces		Nº de individuos
Cañocazo	x Palomino	2, 3 y 4
Cañocazo	x Pedro Ximénez	3, 8, 10, 11, 13, 19, 20, 23, 24, 25 y 28
Garrido	x Palomino	5, 8 y 10
Garrido	x Pedro Ximénez	10, 11, 16, 19 y 20
Palomino	x Cañocazo	4, 14, 16, 19 y 20
Palomino	x Pedro Ximénez	1, 4, 5, 6, 26, 51, 61, 80, 93 y 99
Pedro Ximénez	x Cañocazo	3 y 6
Pedro Ximénez	x Garrido	1, 6, 10, 16, 19 y 20
Pedro Ximénez	x Palomino	8, 17, 21, 34, 37, 60, 70, 79 y 128.

A estos individuos se han adjudicado los nombres correspondientes, que son, respectivamente: Regia, Cartuja, San Dionisio, Alcubilla, Porvera, Arroyo, Fate, Asta, Agar, Consistorio, Tabanco, Arenal, Capuchino, Collegial, Rocío, Monja, Duquesa, Infanta, Madrina, Señora, Paloma, Concha, Jarana, Flamenca, Yedra, Manguana, Gachí, Duca, Feria, La Merced, Copla, Taranta, Limonera, Montero, Lola, Mora, Pajolera, Malena, Horquilla, Espuerta, Caballete, Baúl, Búcaro, Poche, Sombrajo, Patio, Pleita, Redora, Raedera, Rafia, Zoleta, Azada, Zaranda, Angarilla y Cántaro.

3.3.-Serie 3ª: viníferas DEVEJ-72.

En 1971 y 1972, hemos realizado una serie de hibridaciones entre la variedad Palomino y otras variedades seleccionadas por su graduación o su producción, obteniendo los siguientes grupos:

Cruces		Nº de individuos
Albaras	x Palomino	3 y 4
Allarén	x palomino	1
Blanca de Daroca	x Palomino	5, 6, 10, 13, 14, 20, 29, 33 y 35
Cardinal	x Palomino	1
Delizia di Vaprio	x Palomino	1
Emberrous Traube	x Palomino	5, 7 y 10

Garnacha x Palomino	13, 18, 47, 49, 52, 57, 65 y 71
Jaumín x Palomino	2
Luglienga blanca x Palomino	2, 3, 6 y 7
Macabeo x Palomino	1 y 8
Magdalena real x Palomino	1, 3 y 5
Malvar x Palomino	3 y 5
Muscat x Palomino	5
Navarre de la Dordogne x Palomino	1
Olivette blanco x Palomino	3 y 5
Palomino x Admirable de Courtiller	8, 29, 30, 37 y 43
Palomino x Alarije	5, 8, 10, 13 y 14
Palomino x Albaras	1 y 2
Palomino x Aleático	3 y 22
Palomino x Allarén	6, 10, 13, 16, 21, 24, 25, 32, 36 y 37
Palomino x Cardinal	1, 4 y 12
Palomino x Macabeo	5
Palomino x Magdalena real	27, 31 y 37
Palomino x Meslier	10
Palomino x Muscat noir de Marseille	4 y 6
Palomino x Navarre de la Dordogne	3
Palomino x Olivette blanca	6
Palomino x Perla de Csaba	2
Palomin x Pinot	1
Palomino x Portuarto	3, 8 y 23
Palomino x Portuguesa azul	12
Palomino x Rosaki	7, 13 y 14
Palomino x Semillón	4, 5, 6, 15 y 18
Palomino x Sultanina	1, 3, 7, 8, 10 y 11
Palomino x Treixadura blanca	41, 45 y 56
Palomino x Valencí blanco	2
Palomino x Villardiel	19, 23 y 29
Portuarto x Palomino	2, 3 y 4
Puya de gallo x Palomino	1
Sauvignon x Palomino	1

Treixadura blanca x Palomino	7, 25, 27, 28, 29, 47 y 49
Valencí blanco x Palomino	15, 22, 27, 32, 35, 36 y 41
Villardiel x Palomino	15
Vinífera 22 x palomino	2, 5, 12, 15 y 18
Vinífera 23 x palomino	5, 6, 7, 8, 9 y 11

Como estos nuevos individuos se encuentran todavía en período de control de estudio, no se les ha adjudicado aún a todos su nombre definitivo. Sólo a los de mayor interés:

Cruces	Nombre
Garnacha x Palomino 18	Aljibe
Macabeo x palomino 1	Caracuel
Palomino x Cardinal 4	Corredera
Balncá de Daroca x Palomino 6	Galana
Palomino x Cardinal 12	Medina
Palomino x Allarén 21	Palén
Jaumín x Palomino 2	Rosario
Magdalena real x Palomino 5	Sacramento
Olivette x Palomino 5	Sonora

3.4.-Serie 4ª: uva de mesa DEVEJ -79.

En 1979 hemos realizado una serie de hibridaciones entre las variedades de uva de mesa de mayor interés en nuestra colección. Fueron:

Cruces	Nº de los individuos
Argelina x Cardinal	Del 1 al 8
Argelina x Italia	Del 1 al 6
Argelina x Opale	Del 1 al 6
Argelina x Puya de gallo	Del 1 al 3
Argelina x Sultanina	Del 1 al 13
Argelina x Torralba	Del 1 al 12
Delizia di Vaprio x Argelina	Del 1 al 4
Delizia di Vaprio x Cardinal	Del 1 al 3
Delizia di Vaprio x Opale	1
Delizia di Vaprio x Perlette	Del 1 al 7
Delizia di Vaprio x Puya de gallo	Del 1 al 5

Delizia di Vaprio	1
Delizia di Vaprio x Torralba	Del 1 al 12
Italia x Cardinal	Del 1 al 25
Italia x Delizia di Vaprio	Del 1 al 10
Italia x Moscatel	Del 1 al 3
Italia x Opale	Del 1 al 5
Italia x Perlette	Del 1 al 4
Italia x Puya de Gallo	1
Italia x Torralba	Del 1 al 6
Moscatel x Argelina	Del 1 al 4
Moscatel x Cardinal	Del 1 al 7
Moscatel x delizia di Vaprio	Del 1 al 14
Moscatel x Italia	Del 1 al 9
Moscatel x Opale	Del 1 al 5
Moscatel x Puya de gallo	Del 1 al 3
Moscatel x Torralba	1
Opale x Argelina	Del 1 al 2
Opale x Delizia di Vaprio	Del 1 al 6
Opale x Italia	1
Opale x Moscatel	Del 1 al 2
Opale x Perlette	Del 1 al 2
Opale x Puya de Gallo	Del 1 al 2
Opale x Sultanina	1
Opale x Torralba	Del 1 al 37
Puya de gallo x Argelina	Del 1 al 5
Puya de gallo x Cardinal	1
Puya de gallo x Delizia di Vaprio	1
Puya de gallo x Italia	Del 1 al 3
Puya de gallo x Opale	Del 1 al 8
Puaya de gallo x Sultanina	Del 1 al 3
Torralba x Argelina	Del 1 al 24
Torralba x Cardinal	Del 1 al 31
Torralba x Delizia di Vaprio	Del 1 al 39
Torralba x Italia	Del 1 al 34
Torralba x Moscatel	Del 1 al 12
Torralba x Opale	Del 1 al 29

Torralba x Perlette	Del 1 al 29
Torralba x Puya de gallo	Del 1 al 25
Torralba x Sultanina	Del 1 al 74

Se encuentran todavía en fase de puesta en fructificación y sin nombres.

3.5.-Serie 5ª:viníferas DEVEJ-80.

En 1980 hemos realizado hibridaciones entre individuos destacados de las series 2ª (viníferas EVEX), 3ª (viníferas DEVEJ-72) y ciertas variedades de alto contenido en azúcar.

<u>Cruces</u>	<u>Nº de los individuos</u>
Allarén x Cardinal	Del 1 al 26
Allarén x Grenache blanc	Del 1 al 13
Allarén x Infanta	Del 1 al 7
Arenal x Cardinal	Del 1 al 25
Arenal x Grenache blanc	Del 1 al 36
Baúl x Cardinal	Del 1 al 40
Cardinal x Horquilla	1
Cardinal x Infanta	1
Corredera x Allarén	Del 1 al 20
Corredera x Grenacha blanc	Del 1 al 11
Corredera x Infanta	Del 1 al 15
Garnacha blanca x Cardinal	Del 1 al 17
Garnacha blanca x Infanta	Del 1 al 9
Garnacha blanca x Garnacha roja	Del 1 al 15
Garnacha blanca x Malvar	Del 1 al 19
Garnacha blanca x Taranta	Del 1 al 14
Garnacha blanca x Horquilla	Del 1 al 6
Garnacha blanca x Baúl	Del 1 al 7
Garnacha roja x Cardinal	Del 1 al 22
Garnacha roja x Infanta	Del 1 al 16
Garnacha roja x Garnacha blanca	Del 1 al 10
Garnacha roja x Malvar	Del 1 al 33
Garnacha roja x La Merced	Del 1 al 2
Garnacha roja x Taranta	Del 1 al 13
Garnacha roja x Baúl	Del 1 al 7

Grenache blanc x Cardinal	1
Grenache blanc x Palén	Del 1 al 7
Grenache blanc x Corredera	Del 1 al 5
Horquilla x Cardinal	Del 1 al 29
Horquilla x Grenache blanc	Del 1 al 7
Infanta x Cardinal	Del 1 al 4
Infanta x Grenache blanc	Del 1 al 22
Malvar x Cardinal	Del 1 al 17
Malvar x Infanta	Del 1 al 10
Malvar x Grenache blanc	Del 1 al 2
Malvar x Horquilla	1
Medina x Grenache blanc	Del 1 al 8
Palén x Cardinal	Del 1 al 28
Palén x Infanta	Del 1 al 2
Palén x Grenache blanc	Del 1 al 3
Paloma x Cardinal	Del 1 al 68
Paloma x Grenache blanc	Del 1 al 30
Redora x Cardinal	1
Redora x Grenache blanc	Del 1 al 16
Semillón x Cardinal	Del 1 al 5
Taranta x Grenache blanc	Del 1 al 3
Verdiel x Cardinal	Del 1 al 40
Verdiel x Grenache blanc	Del 1 al 24

Se encuentran en fase de puesta en fructificación.

3.6.-Serie 6ª:viníferas DEVEJ-82.

En 1982 hemos realizado hibridaciones análogas a las de la serie 5ª. Son:

----- Cruces

Cardinal x Aleático
Cardinal x Baúl
Cardinal x Delizia di Vaprio
Cardinal x Grenache blanc
Cardinal x Muscat de Hamburgo
Cardinal x Palén
Cardinal x Porche
Cardinal x Sonora

Corredera x Baul
 Corredera x Delizia di Vaprio
 Corredera x Grenache blanc
 Corredera x Horquilla
 Delizia di Vaprio x Cardinal
 Delizia di Vaprio x Corredera
 Delizia di vaprio x verdiel
 Grenache blanc x Delizia di Vaprio
 Grenache blanc x Redora
 Redora x cardinal
 Redora x Delizia di Vaprio
 Redora x grenache blanc
 Redora x Verdiel

Esta serie se encuentra en fase de enraizamiento.

3.7.-Serie 7ª:viníferas DEVEJ-83.

En 1983 hemos realizado hibridaciones entre diferentes variedades de uva de mesa,incluyendo en algunas la variedad Palomino.

----- Cruces

Aledo x Moscatel blanco
 Aledo x Palomino 84
 Aledo x Perola gestosa
 Aledo x Sultanina blanca
 Don Mariano x palomino 84
 Don Mariano x Sultanina blanca
 Palomino fino x Doroni Macerón
 Palomino fino x Rosaki
 Palomino 84 x Sultanina blanca
 Palomino 84 x Torralba
 Rosetti x Sultanina blanca

Las plantas correspondientes a esta serie están aún en invernadero.

4.- CARACTERISTICAS DE LAS VARIEDADES MAS DESTACADAS.

El material anterior se encuentra en colecciones y multiplicado a distinta escala,según su interés y edad,en la finca "La Merced" del Departamento de Viticultura y Enología de Jerez y otras parcelas

colaboradoras.

Pasamos a señalar los caracteres más importantes de las variedades de mayor interés y de las que poseemos datos suficientemente significativos.

4.1.-Portainjertos EVEX.

Las descripciones ampelográficas de las variedades más importantes, de acuerdo con las normas internacionales (OIV, IBPGR y UPOV) lista de veintiún caracteres, que se han podido realizar hasta el momento se indican en la Tabla I.

En relación a su comportamiento en el campo, los datos de nuestras parcelas de control ubicadas en terrenos de albarizas, en la zona del Jerez, injertadas con palomino fino podado a vara y pulgar, arrojan los siguientes resultados:

Patrón	Uva en Kg/cepa (Datos de 24 años)	Baumé Datos de 9 años	Acidez(g/l) Datos de 9 años	Ataque de clo- rosis. Datos de 9 años
13 - 5	4,52	10,90	3,91	0,14
13 - 44	4,41	11,64	3,70	0,08
13 - 1	4,41	11,43	3,77	0,15
13 - 25	4,18	11,42	3,84	0,50
13 - 16	4,13	11,37	3,62	0,35
13 - 3	3,75	11,08	3,56	0,54

La sensibilidad a la clorosis se ha valorado de 0 a 5 puntos considerando 0 puntos cuando no presenta prácticamente síntomas de clorosis y 5 puntos cuando es realmente sensible.

El enraizamiento de estos portainjertos es superior al de su progenitor Berlandieri Resseguier nº 2. Sin embargo, resulta inferior al del 41-B.

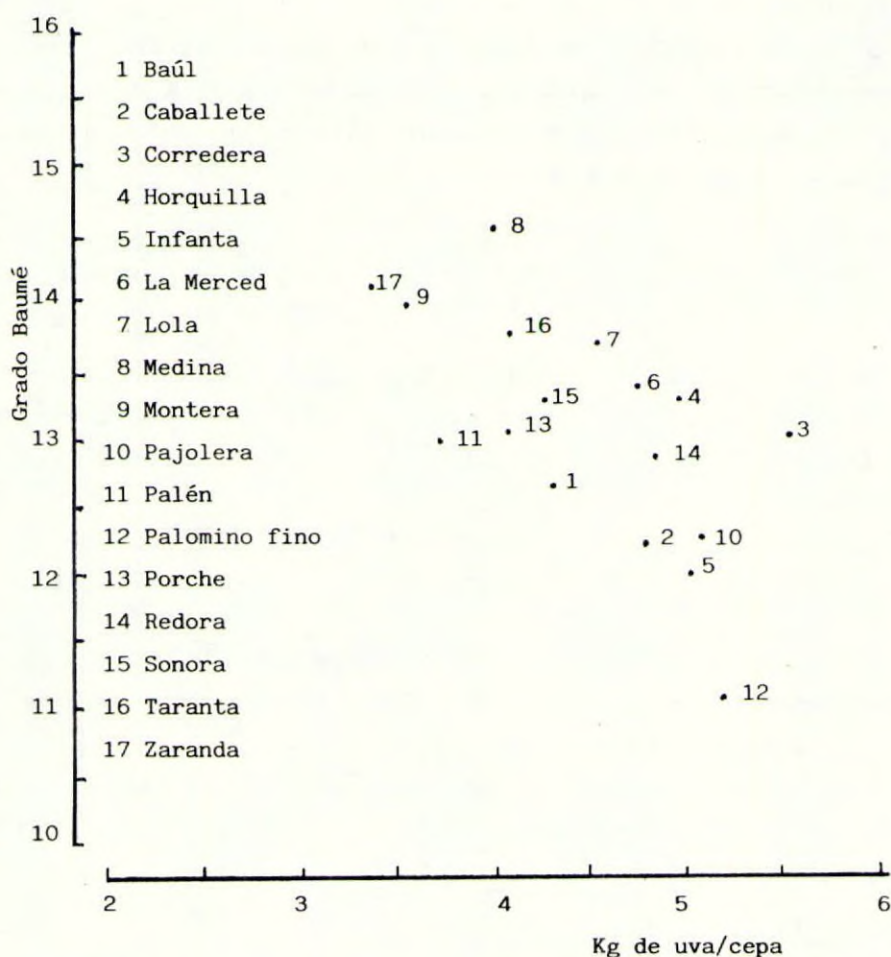
4.2.-Viníferas.

De las nuevas variedades reunidas en los apartados 3.2 y 3.3 hemos creído conveniente destacar las siguientes: Baúl, Caballete, Corredera, Horquilla, Infanta, La Merced, Lola, Medina, Montero, Pajolera, Palén, Porche, Redora, Sonora, Tarante y Zaranda. Incluimos la variedad Palomino fino como referencia.

Sus descripciones ampelográficas se están realizando actualmente.

En relación a sus características de campo, los controles realizados en la colección, sobre terreno de albariza de Jerez, injertadas sobre 41-B, poda vara y pulgar y cultivo normal se la zona, son las que se indican en la Tabla II.

La relación entre Baumé y Kg de uva/cepa de estas variedades pueden representarse gráficamente como sigue:



5.- CONSIDERACIONES FINALES.

De los datos presentados, pueden extraerse las siguientes consideraciones finales:

- Entre las nuevas variedades de vid obtenidas por hibridación en el Departamento de Viticultura y Enología de Jerez de la Frontera una serie de ellas destacan por su buen comportamiento.

- En el capitulo de portainjertos sobresale uno, el 13-5, que se encuentra extendido en la zona del jerez y comienza a ser requerido en otras regiones. Destacan también los 13-44, 13-1, 13-25, 13-16 y 13-3, que son actualmente estudiados a mayor escala.
- Entre las viníferas y en nuestras condiciones de trabajo, hay un grupo de relativa importancia que ofrece buen comportamiento en el campo, con producciones y contenido en azúcar de alto nivel, señalados anteriormente. Dado que su estudio enológico está poco avanzado y que las observaciones no se han completado y repetido suficientemente por su reciente creación en buena parte de los casos, no podemos, por el momento, recomendar definitivamente variedades concretas. No obstante es indudable el interés genético de este nuevo material vitícola, cuyo control y estudio se continua.

6.- BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

FERNANDEZ DE BOBADILLA, G. Los portainjertos. VIII Congreso Internacional de la Viña y del Vino (OIV). Santiago de Chile. (1956).

GARCIA DE LUJAN, A., GARRIDO, A. y BUSTILLO, J.M. Comportamiento de nuevos portainjertos de vid en terrenos calizos. II Jornadas Universitarias sobre el Jerez. Cádiz. (1982).

GARCIA DE LUJAN, A. y LUSTAU, E. Los patrones de vid 13-3 y 13-5 EVEX. La Semana Vitivinícola, 1871, 2.277-79.

T A B L A I

CODIGO O.I.V.	PORTAINJERTOS CARACTERES						
		13 - 1	13 - 3	13 - 5	13 - 16	13 - 25	13 - 44
001	Pámpano joven: forma de la extremidad. 3, cerrada/5, semi-abierta/7, abierta.	5	5	5	5	5	5
003	Pámpano joven: intensidad de la pigmentación antociánica de la extremidad. 1 nula o muy débil/3, débil/5, media/7, fuerte/9, muy fuerte.	3	5	3	3	3	3
004	Pámpano joven: densidad de los pelos tumbados de la extremidad. 1, nula o muy baja/3, baja/5, media/7, alta/9, muy alta.	3	5	5	3	5	5
011	Pámpano: densidad de los pelos erguidos de los nudos. 1, nula o muy baja/3, baja/5, media/7, alta/9, muy alta.	1	3	3	1	1	1
016	Zarcillo: distribución sobre el pámpano 1, discontinua (2 ó menos)/2, subcontinua o continua (3 ó más).	1	1	1	1	1	1
065	Hoja adulta: tamaño del limbo. 1, muy pequeño/3, pequeño/5, mediano/7, grande/9, muy grande	5	5	5	5	5	5
068	Hoja adulta: número de lóbulos. 1, hoja entera/2, tres/3, cinco/4, siete/5, más de siete.	2	2	2	2	2	2
076	Hoja adulta: forma de los dientes. 1, de lados cóncavos/2, de lados rectilíneos/3, de lados convexos/4, un lado cóncavo y otro convexo.	3	3	3	3	3	3
079	Hoja adulta: forma del seno peciolar. 1, muy ampliamente abierto/2, muy abierto/3, abierto/4, poco abierto/5, cerrado/6, con lóbulos ligeramente superpuestos.....	3	3	3	3	3	3
084	Hoja adulta: densidad de los pelos tumbados sobre los nervios (envés). 1, nula o muy nula/3, baja/5, media/7, alta/9, muy alta.	1	1	1	1	1	1
085	Hoja adulta: densidad de los pelos erguidos entre los nervios (envés). 1, nula o muy baja/3, baja/5, media/7, alta/9, muy alta.	3	5	5	3	5	3

T A B L A I (Contin.)

	PORTAINJERTOS CARACTERES						
151	Inflorescencia: sexo de la flor. 1, masculina/2, masculina a hermafrodita/3, hermafrodita/4, femenina con estambres erguidos/5, femenina con estambres reflejos.	1	1	1	1	5	1
202	Racimo: tamaño. 1, muy pequeño/3, pequeño/5, mediano/7, grande/9, muy grande.	-	-	-	-	-	-
206	Racimo: longitud del pedúnculo. 1, muy corto/3, corto/5, mediano/7, largo/9, muy largo.	-	-	-	-	-	-
220	Baya: tamaño. 1, muy pequeña/3, pequeña/5, mediana/7, grande/9, muy grande	-	-	-	-	-	-
223	Baya: forma. 1, aplastada/2, ligeramente aplastada/3, esférica/4, elíptica corta/5, ovoide/6, troncovoide/7, acuminada/8, cilíndrica/9, elíptica larga/10, arqueada.	-	-	-	-	-	-
225	Baya: color de la epidermis. 1, verde-amarilla/2, rosa/3, roja/4, roja-gris/5, roja-violeta-oscuro/6, azul-negra/7, roja-negra.	-	-	-	-	-	-
230	Baya: coloración de la pulpa. 1, no coloreada/2, coloreada.	-	-	-	-	-	-
236	Baya: sabores particulares. 1, ninguno/2, gusto a moscatel/3, gusto a foxé/4, gusto especial.	-	-	-	-	-	-
241	Baya: presencia de pepitas. 1, ausente/2, rudimentarias/3, presente.	-	-	-	-	-	-
244	Baya: estrías transversales en la cara dorsal de las pepitas. 1, ausentes/2, presentes	-	-	-	-	-	-

T A B L A II

Variedades		Montera	Pajolera	Palén	Palomino	Porche	Redora	Sonora
Observaciones								
Fecha de brotación		6/3	12/3	21/3	24/3	21/3	21/3	18/3
Fecha de floración		21/5	21/5	16/5	23/5	20/5	23/5	19/5
Fecha de envero		21/7	18/7	10/7	16/7	20/7	20/7	10/7
Fecha de parada del crecimiento		21/7	20/7	24/7	31/7	20/7	3/8	14/7
Fecha de caída de la hoja		14/11	12/11	6/11	24/11	7/11	7/11	19/11
Vegetación sobre 5 puntos		4	4	4	4	3	5	4
Sensibilidad al mildiu		baja	baja	baja	baja	baja	baja	muy baja
Sensibilidad al oidio		muy baja	muy baja	muy baja	baja	muy baja	muy baja	muy baja
Sensibilidad a la podredumbre del racimo		muy baja	muy baja	muy baja	muy baja	muy baja	muy baja	muy baja
Sensibilidad a la clorosis sobre 5 puntos		0	0	1	1	1	1	2
Kgs de uva por cepa		3,63	5,19	3,73	5,21	4,16	4,83	4,25
Baumé a 15°C		12,2	13,1	13,1	11,0	12,8	13,3	13,7
Acidez (g/l) en tartárico		5,04	3,57	4,88	3,97	5,05	4,19	4,03
Fecha de vendimia		15/9	13/9	5/9	14/9	13/9	12/9	9/9

T A B L A II (Continuación)

Observaciones	Variedades						
	Taranta	Zaranda	Baúl	Caballote	Corredera		
Fecha de brotación	12/3	19/3	18/3	16/3	16/3		
Fecha de floración	16/5	25/5	20/5	25/5	15/5		
Fecha de envero	21/7	29/7	25/7	28/7	10/7		
Fecha de parada del crecimiento	23/7	30/7	22/7	24/7	22/7		
Fecha de caída de la hoja	14/11	24/11	15/11	23/11	16/11		
Vegetación sobre 5 puntos	4	5	4	5	5		
Sensibilidad al mildiu	baja	baja	baja	baja	baja		
Sensibilidad al oidio	muy baja	muy baja	baja	baja	baja		
Sensibilidad a la podredumbre del racimo	muy baja	muy baja	muy baja	muy baja	muy baja		
Sensibilidad a la clorosis sobre 5 puntos	0	1	1	0	0		
Kgs de uva por cepa	4,13	3,32	4,35	4,83	5,57		
Baumé a 15°C	14,1	11,0	12,7	12,2	13,1		
Acidez (g/l) en tartárico	3,58	4,40	5,40	5,53	5,52		
Fecha de vendimia	15/9	14/9	13/9	13/9	12/9		

T A B L A II (Continuación)

Variedades						
Observaciones	Horquilla	Infanta	La Merced	Lola	Medina	
Fecha de brotación	19/3	19/3	24/3	18/3	18/3	
Fecha de floración	24/5	18/5	23/5	17/5	19/5	
Fecha de envero	18/7	24/7	22/7	15/7	7/7	
Fecha de parada del crecimiento	19/7	22/7	23/7	19/7	1/8	
Fecha de caída de la hoja	11/11	12/11	12/11	15/11	18/11	
Vegetación sobre 5 puntos	4	4	4	4	5	
Sensibilidad al mildiu	media	baja	media	baja	baja	
Sensibilidad al oidio	baja	baja	muy baja	muy baja	baja	
Sensibilidad a la podredumbre del racimo	muy baja	muy baja	muy baja	muy baja	muy baja	
Sensibilidad a la clorosis sobre 5 puntos	1	1	1	0	0	
Kgs de uva por cepa	4,99	5,18	4,82	4,60	4,09	
Baumé a 15°C	13,2	12,1	13,4	13,7	14,6	
Acidez (g/l) en tartárico	3,93	3,74	4,59	4,27	4,86	
Fecha de vendimia	13/9	11/9	13/9	11/9	7/9	

MADURACION INDUSTRIAL DE LA UVA EN EL MARCO DEL JEREZ:
CAMPAÑAS DE 1982 Y 1983.

Martínez de la Ossa, E.; Valcárcel Muñoz, M.J.; Gil de Reboleño Insúa, R. y Pérez Rodríguez, L.

Dpto. de Química Técnica. Facultad de Ciencias. Universidad de Cádiz.

RESUMEN.

La vendimia es un momento crucial en la industria vitivinícola: marca el fin de la etapa de producción de la uva y el comienzo de la elaboración del vino nuevo. La oportunidad de su celebración conlleva ciertas implicaciones, tanto desde el punto de vista económico como del de la calidad, lo que motiva cierta polémica entre los sectores vitivinícola y enológico.

Por ello, el Departamento de Química Técnica de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Cádiz, inició en 1982 un estudio consistente en el seguimiento de la maduración de la uva en el marco del Jerez.

Los resultados obtenidos durante las campañas de 1982 y 1983, así como el estudio comparativo de las citadas campañas, son el objeto del estudio de la presente comunicación.

INTRODUCCION Y OBJETIVOS.

La vendimia es un momento crucial en la industria vitivinícola pues marca el fin de la fase de producción de la uva y el comienzo de la elaboración del vino nuevo. La oportunidad de su realización conlleva ciertas implicaciones, tanto desde el punto de vista económico como desde el de la calidad, lo que provoca no pocas tensiones entre los sectores vitivinícola y enológico.

Por parte del viticultor existen motivaciones, ciertamente comprensibles, tendentes a adelantar la fecha de la vendimia. Por otro lado, las actuales circunstancias socioeconómicas y la magnitud de ciertas vendimias en el marco del Jerez requieren una organización del trabajo que motiva se fije de antemano la fecha de la corta, aca-

rreando su modificación serias dificultades, dicha magnitud provoca que se comience muy pronto para acabar muy tarde. Además, es normal que el viticultor pretenda poner en lugar seguro el producto de un año de trabajo lo antes posible; el temor de que unas lluvias torne penosa la recogida del fruto, afecten al estado sanitario de las uvas o provoquen su caída al suelo, martillea el sentir del viticultor.

Todas estas causas, unidas a un efecto de curiosidad, de la pronta tendencia a la nueva cosecha o de realizar la tarea planteada por el enólogo, desembocan en una precipitación colectiva a la que es difícil resistirse.

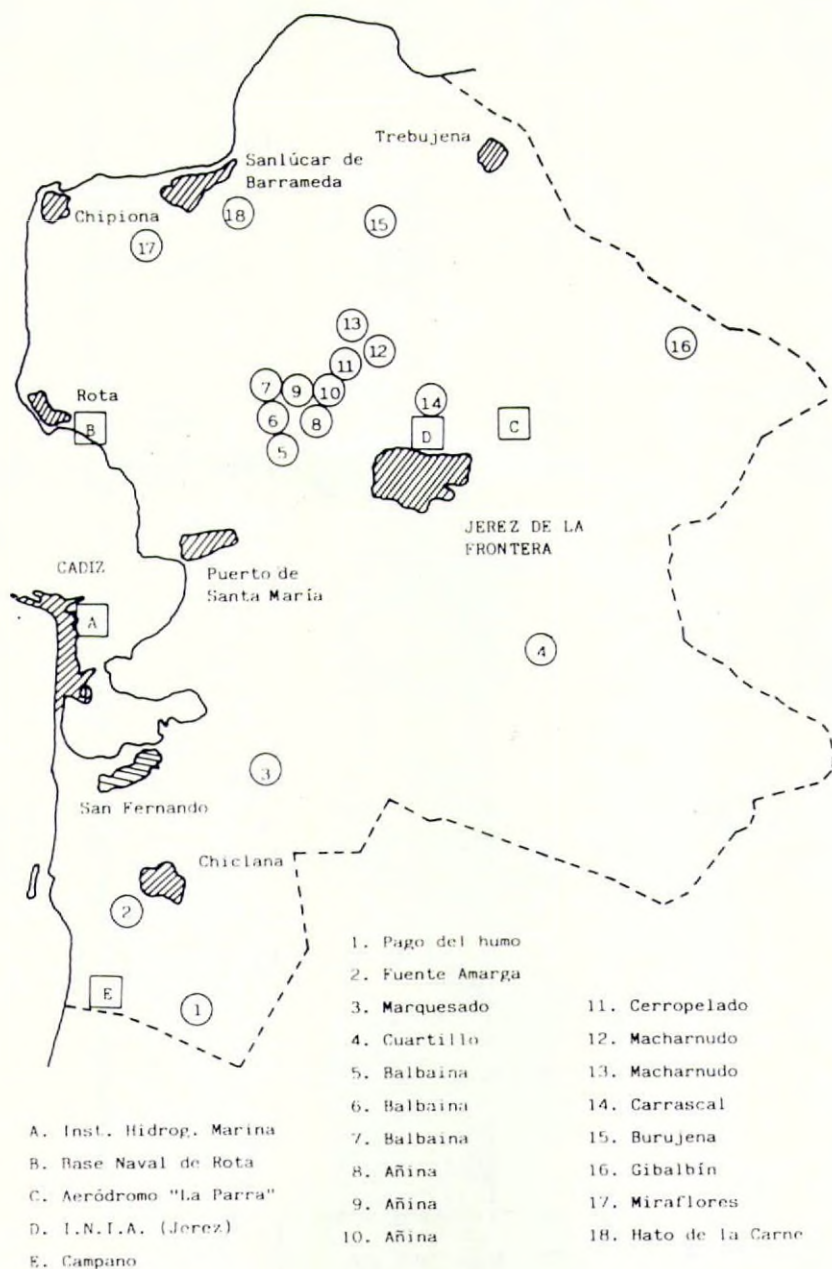
Ahora bien, cuando se busca la calidad no hay elección posible, pues la prisa por vendimiar la compromete irremediablemente. Por ello, para fijar la fecha de la vendimia no basta considerar la apariencia de las cepas o de la uva, el dulzor o acidez de boca, resistencia al desprendimiento del grano, color del raspón, etc..., es necesario determinar el peso del grano, su riqueza en azúcares, sus niveles de ácidos....

Por ello, el Departamento de Química Técnica de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Cádiz inició en 1982 un estudio consistente en el seguimiento de la maduración de la uva en el marco del Jerez, estudio basado en el análisis de los parámetros más importantes desde el punto de vista del establecimiento de la madurez industrial de la cosecha, así como su interpretación de acuerdo con los fenómenos meteorológicos registrados a lo largo de las campañas.

Como resultado de este planteamiento, en el presente trabajo se recogen los valores medios de los parámetros analizados en dos campañas, las de 1982 y 1983, y se realiza un estudio comparativo de los procesos de maduración de la uva en estas dos campañas.

METODO DE TRABAJO.

Las zonas de viñedos objeto de este estudio se encuentran reflejadas en la grafica 1, en la que se exponen las parcelas en las que se han tomado las muestras de uva, así como su pago de ubicación. Como puede observarse, están ampliamente distribuídas por todo el marco del Jerez, haciendo especial énfasis en la zona del Jerez superior.



GRAFICA 1.- Mapa representativo de la ubicación de las parcelas en las que se ha efectuado la toma de muestras de uva y de los centros que han proporcionado los datos meteorológicos.

En cuanto a la toma de muestras, se hizo en pequeños racimos de unos diez granos de uva, como máximo, por cepa (téngase en cuenta que cada parcela estudiada comprendía una superficie de 30x30 cepas), recogiendo dichos racimos en cepas salteadas para garantizar su representatividad en cuanto al estado de la uva del lugar, hasta completar un peso máximo de 2,5 kg de uva por parcela.

La periodicidad de la toma de muestras fué semanal, recogiendo a primeras horas de la mañana y transportándose inmediatamente al laboratorio para proceder a su análisis. A estas muestras les fueron determinados los parámetros que se indican en la tabla I, en la que, además, se exponen los métodos analíticos empleados en estas determinaciones.

TABLA I

<u>Parámetro analizado.</u>	<u>Método de análisis.</u>
Peso del grano.	Pesada.
Residuo a 110°C.	Diferencia de pesada (1).
Residuo a 800°C.	" " (2).
pH	pH-metría.
Acidez total.	Volumetría (3).
Acido Tartático.	Rebelein modificado (4).
Acido Málico.	Test enzimático (5).
Grado Baumé.	Areometría (6).
Azúcares totales.	Licor de Fehling (7).
Fosfatos.	Colorimetría (8).
Nitrógeno total.	Kjeldal (9).
Amonio.	"
Alcalinidad de las cenizas.	Volumetría (10).
Potasio.	Absorción atómica (11).

Los datos climatológicos utilizados provienen de cinco Centros (Instituto Hidrográfico de la Marina en Cádiz, Estación Meteorológica de la Base Naval de Rota, Estación Meteorológica de "El Rancho de la Merced del I.N.I.A. en Jerez, Estación Meteorológica del Aeródromo Militar de "La Parra" en Jerez, y la Estación Climatológica de Campaño) que, por su ubicación, como queda reflejado en el grafico 1, ofre-

cen una visión conjunta y representativa de la zona de producción del Jerez.

De los datos climatológicos recogidos, seleccionados por su incidencia directa sobre la evolución de la maduración de la uva, se ofrecen en este trabajo los correspondientes a la temperatura media y las precipitaciones medias, representadas en las gráficas 2 y 3. Además, y con fines de comparación, se aportan los valores medios de temperatura y precipitaciones, expresadas mensualmente, de los noventa últimos años, proporcionados por el I.N.I.A. de Jerez, denominados en los sucesivos como del "año medio".

RESULTADOS.

Los resultados obtenidos para los valores medios de los parámetros analizados a lo largo de las dos campañas estudiadas se recogen en las tablas II (los correspondientes a la de 1982) y III (los de la de 1983).

CONSIDERACIONES SOBRE LOS RESULTADOS.

El análisis de los resultados obtenidos manifiesta que existen determinados parámetros que siguen tendencias similares durante el período considerado en ambas campañas, como son el contenido en azúcares, que aumenta considerablemente, o la acidez total, que por el contrario disminuye.

En base a la evolución de estos parámetros que suelen seguir universalmente estas tendencias, se establece un índice de maduración que viene definido por la relación entre el contenido en azúcares (g/l expresados en glucosa) y la acidez total (g/l expresados en ácido Tartrático). Aplicando este índice se obtienen los datos que se indican en la tabla IV.

TABLA IV (índices de maduración)

<u>Semana</u>	<u>1ª/8</u>	<u>2ª/8</u>	<u>3ª/8</u>	<u>4ª/8</u>	<u>5ª/8</u>	<u>6ª/8</u>	<u>7ª/8</u>
Campaña/82	27	36	43	52	58	52	68
Campaña/83	13	18	22	26	32	37	35

TABLA II

VALORES MEDIOS DE LOS DISTINTOS PARAMETROS ANALIZADOS

<u>PARAMETRO</u>	<u>3-8-82</u>	<u>10-8-82</u>	<u>17-8-82</u>	<u>24-8-82</u>	<u>31-8-82</u>	<u>7-9-82</u>	<u>14-9-82</u>
Peso medio del grano (g)	2.31	2.44	2.34	2.43	2.44	1.95	2.30
Residuo a 110 °C (%)	15.2	15.7	15.8	17.4	18.7	18.0	17.6
Residuo a 800 °C (%)	0.34	0.39	0.35	0.42	0.34	0.39	0.37
pH	3.18	3.35	3.40	3.48	3.50	3.54	3.53
Acidez total (g TH ₂ /l)	5.28	4.76	4.06	3.68	3.39	3.93	3.11
Acido tartárico (g/l)	6.12	5.19	5.30	5.36	5.51	4.80	5.21
Acido málico (g/l)	--	--	0.36	0.34	0.28	--	--
Grado Baumé	8.8	10.0	10.2	11.0	11.2	11.6	11.9
Azúcares totales (g/l)	144	170	175	191	196	204	211
Nitrógeno total (mg N/l)	260	290	390	410	450	570	540
Amonio (mg/l)	50	40	40	40	40	50	40
Nitrógeno orgánico (mg N/l)	210	250	350	370	410	520	500
Alcalinidad en cenizas (g/kg)	2.15	1.36	1.92	2.23	1.99	2.07	1.88
Potasio (g/l)	1.05	1.03	1.13	1.22	1.20	1.16	1.41

TABLA III

VALORES MEDIOS DE LOS DISTINTOS PARAMETROS ANALIZADOS

<u>PARAMETRO</u>	<u>2-8-83</u>	<u>9-8-83</u>	<u>16-8-83</u>	<u>23-8-83</u>	<u>30-8-83</u>	<u>6-9-83</u>	<u>13-9-83</u>
Peso medio del grano (g)	1.49	1.59	1.64	1.74	1.60	1.68	1.49
Residuo a 110 °C (%)	13.0	13.8	15.0	16.6	17.0	18.5	17.1
Residuo a 800 °C (%)	0.35	0.37	0.38	0.41	0.40	0.48	0.45
pH	3.07	3.15	3.19	3.32	3.47	3.49	3.35
Acidez total (g TH ₂ /l)	8.54	7.23	6.18	5.65	5.23	5.10	5.39
Acido tartárico (g/l)	6.17	8.55	8.50	8.96	9.39	9.00	7.80
Acido málico (g/l)	--	0.94	0.66	0.41	0.34	0.32	0.29
Grado Baumé	7.29	7.93	8.74	9.34	10.34	10.98	11.25
Azúcares totales (g/l)	112	127	140	149	168	182	187
Azúcares reductores	91	115	133	146	166	179	185
Fosfatos (mg/l)	66	72	91	106	197	198	144
Nitrógeno total (mg N/l)	355	330	347	312	355	410	358
Amonio (mg/l)	100	80	59	57	48	55	60
Nitrógeno orgánico (mg N/l)	255	250	288	255	307	355	298
Alcalinidad en cenizas (g/kg)	2.44	3.31	3.84	3.86	4.13	4.49	4.39
Potasio (g/l)	0.92	0.89	0.92	1.14	1.05	1.16	1.08

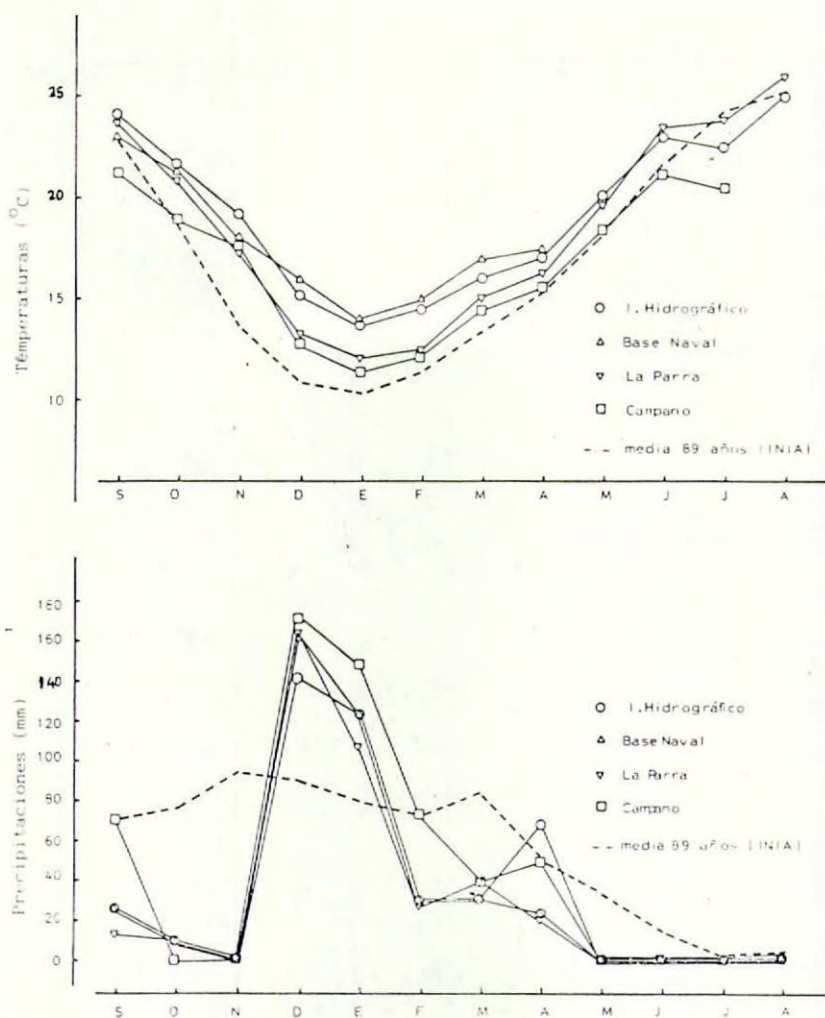
Existen grandes diferencias entre los índices de maduración obtenidos en una campaña y los correspondientes a la otra, de tal forma que los de la del 83 suponen aproximadamente el 50% del valor de los de la del 82. Esta gran diferencia de valores obedece a que el contenido en azúcares fue más elevado durante la campaña del 82, así como a que su acidez total fue menor, con respecto a la del 83.

Las diferencias en el contenido en azúcares en ambas campañas es significativamente más importante durante la primera fase del período considerado en el estudio (prácticamente los meses de agosto), donde se registra una diferencia del orden de un 30% mayor en el año 1982. Al término del período de maduración considerado (mediados de septiembre) estas diferencias disminuyen para situarse en torno a un 12%. Las diferencias en cuanto a la acidez total se mantienen prácticamente en el mismo nivel a lo largo de todo el período, siendo superiores en el año 83 entre un 60 y un 70%.

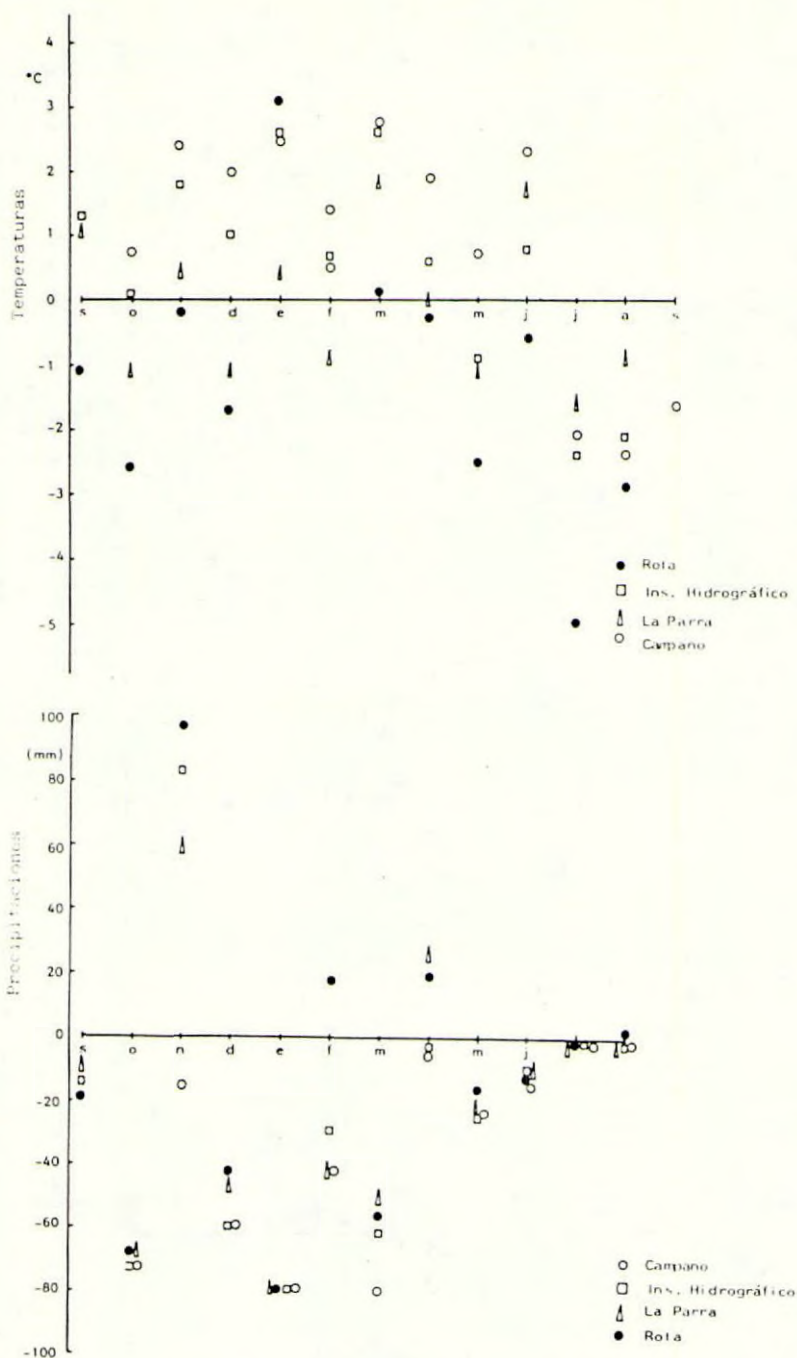
Sin duda alguna, la climatología habida durante estas campañas y las precedentes, ha influido poderosamente en la obtención de tales resultados. La escasez pluviométrica registrada durante la campaña del 83, en la que las lluvias alcanzaron tan sólo el 42% de la media anual en la zona, además del hecho de que durante la campaña del 82 solamente se alcanzaron los 2/3 de dicha media anual, se traduce en un drástico descenso de las reservas hídricas del suelo y provoca la inhibición de los fenómenos migratorios, no pudiéndose establecer con normalidad los oportunos procesos de maduración en el fruto.

Esta falta hídrica ha motivado que el tamaño del grano sea pequeño (su peso representa en la campaña del 83 tan sólo el 65%, aproximadamente, del registrado en la del 82), lo que ha incidido manifiestamente en que la cosecha haya sido escasa.

Este "estado de involución" del fruto en la campaña del 83 también se manifiesta en el contenido en amonio (nitrógeno amónico) registrado, mayor que en la campaña del 82. Por el contrario, los niveles de nitrógeno orgánico (diferencia entre el nitrógeno total y el amoniacal) son notablemente mayores al final del período de maduración del 82 que los correspondientes al mismo período del 83. Ello se puede interpretar en el sentido de que la síntesis de materia orgánica nitrogenada, constitutiva del fruto, ha sido mucho más importante en



GRAFICA 2.- Temperaturas y precipitaciones medias, expresadas por meses, habidas durante el año agrícola 1981-82.



GRAFICA 3.- Desviaciones sobre la media anual de las precipitaciones y temperaturas, expresadas por meses, habidas durante el año agrícola 1982-83.

el 82 que en el 83. Esta síntesis establece una demanda del nitrógeno amoniacal (inorgánico) y es una de las causas por las que es menor el contenido en amonio durante el 82. No obstante, este parámetro queda sujeto también a los fenómenos migracionales, que tal excepcionales se han mostrado durante la campaña del 83.

COMENTARIOS FINALES Y AGRADECIMIENTOS.

La naturaleza del estudio que se plantea en este trabajo requiere la acumulación de datos adquiridos a través de un número significativo de seguimientos de campañas. Sólo el disponer de una serie lo suficientemente amplia de resultados puede permitir la caracterización y catalogación de una vendimia específica por comparación con la media significativa.

El interés que ofrece este estudio de seguimiento será tanto mayor cuanto mayor sea la posibilidad de catalogación de una campaña lo más anticipadamente posible a su momento de realización. El predisponer los medios y procedimientos más adecuados para conseguir los mejores resultados económicos y de calidad en una vendimia es, sin duda, un recurso de alto valor, al que tan sólo se puede aspirar a través del trabajo sistemático realizado campaña tras campaña.

Por ello, el presentar los datos de sólo dos campañas se hace con el objeto de manifestar la sistemática del estudio emprendido por el Departamento de Química Técnica e iniciar la acumulación de los datos necesarios para poder llevar a cabo una caracterización efectiva de la cosecha en el marco del Jerez.

Queremos agradecer la colaboración prestada por las Estaciones Meteorológicas de los centros citados anteriormente, así como la de los propietarios y empresas, que tan efectivamente han prestado sus servicios y parcelas de viñedos para que este estudio pudiera llevarse a cabo. Asimismo, manifestar nuestro ofrecimiento para informar de manera oportuna de los resultados que se vayan obteniendo durante las sucesivas campañas a cuantas personas y entidades lo soliciten.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

- (1). Pérez Rodríguez y cols.: "Seguimiento Industrial de la Maduración de la Uva: Campaña de 1982". Ed. Caja Rural Provincial, Cádiz (1982).
- (2). Riberau-Gayón, J. et als.: "Science et Techniques du Vin", tome 1. Ed. Dunod, París (1976).
- (3). Anónimo: "Recueil des Methodes Internationales d'Analyse des Vins" O.I.V.V., París (1973).
- (4). Rebelein, H.: Feuilletts Verts., O.I.V. (1969).
- (5). Mayer, K. & Busch, J.: Mitt. Geb.. Lebensm. Unters. Hyg., 54, 60 (1963).
- (6). Amerine, M.A. & Ough, C.S.: "Análisis de Vinos y Mostos". Ed. Acribia, Zaragoza (1976).
- (7). Lane, J. & Eynon, L.: J. Soc. Chem. Ind., 4, 32 (1923).
- (8). Sudraud, P.: Feuilletts Verts, O.I.V. (1968).
- (9). Ogg, C.L.: "Kjeldhal Method. Organic Analysis: Nitrogen. Treatise on Analytical Chemistry", II, 11 (B). Ed. John Wiley & Sons, Inc. New York (1965).
- (10). Amerine, M.A.: Advances Food Research, 8, 113 (1958).
- (11). Hill, G.L. & Caputi, A.: Am. J. Enol. Viticult., 20, 227 (1969).

AISLAMIENTO DE UN SISTEMA OXIDATIVO DEL INDOL EN HOJAS DE VITIS VINÍFERA L.

Catalina, L.; Sarmiento, R.; Mazuelo, C y Romero, R.

Centro de Edafología y Biología Aplicada del Cuarto. C.S.I.C. Sevilla.

RESUMEN

Se ha estudiado la actividad de un enzima, aislado de un extracto libre de células de las hojas de *Vitis vinífera* L., capaz de producir una rápida desaparición del indol. La oxidación del indol por dicho enzima es independiente de la presencia de L-serina y fosfato de piridoxal. La actividad enzimática es fuertemente inhibida por la presencia en el seno de la reacción de ditionito, neocuproina, dietilditiocarbamato, o-fenantrolinea, , -dipiridilo y 8-oxiquinoleína. Por diálisis el enzima pierde su actividad que puede ser parcialmente restaurada por la adición de Cu^{2+} , Fe^{2+} y FAD. La atebriina inhibe fuertemente la actividad del enzima que puede ser protegida por la adición de FAD.

INTRODUCCION

La ruta metabólica del aminoácido indispensable L-triptofano ha sido ampliamente estudiada en microorganismos (1 a 6), cultivos de tejidos vegetales (7 a 9) y plantas (10 a 12). Esta síntesis tiene lugar a través de una secuencia de reacciones que se expresan en la Fig. 1.

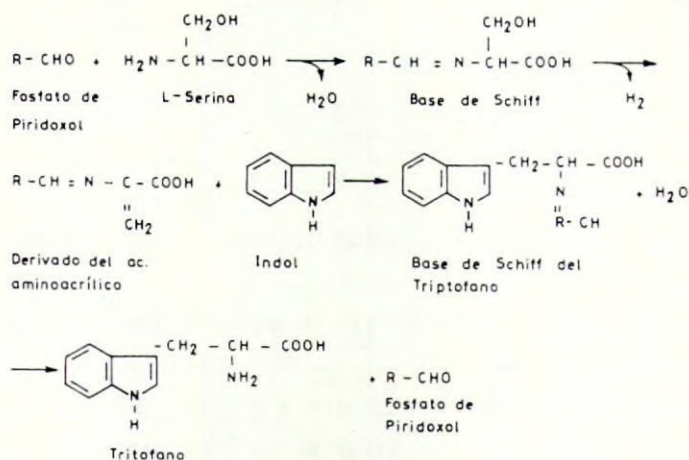


Fig.1.- Secuencias de reacciones de la biosíntesis del L-Triptofano en microorganismos y plantas.

Esta importancia biológica de la transformación del indol en el aminoácido indispensable L-Triptofano, ha generado desde hace tiempo un considerable interés de las transformaciones del indol y sus derivados en el organismo animal. Así, hoy día, se conocen rutas metabólicas anormales de dicho compuesto en animales como en el caso de la fenilcetonuria, enfermedad de Hartnup y pelagra (13) y también en ciertos desordenes mentales (14).

Sin embargo, otras rutas metabólicas del indol en los organismos vegetales no han sido estudiadas con detalle hasta el momento actual. Se han citado sistemas oxidativos del indol en ciertas especies de Pseudomonas (15), en las hojas de Tecoma stans L. (16) una planta común de la India, en las hojas del Jasminun grandiflorum L. (17) y en las hojas de Zea mays L. (18). Todos estos enzimas han sido caracterizados como cuproflavoproteínas, que transforman el indol en ácido antranílico. En el caso de la vid, es conocida de antiguo la presencia de significativas concentraciones de ácido antranílico en los zumos, mostos y vinos, así como la presencia de antranilato de metilo entre los componentes del aroma de estos últimos. El hecho de la existencia en los zumos de uva, descarta la posibilidad de que el ácido antranílico contenido en mostos y vinos sea una consecuencia de la fermentación alcohólica. Dicho hecho presupone la presencia en la planta de vid, bien en sus hojas, bien en sus frutos de un sistema oxidativo del indol.

En la presente comunicación se describe el aislamiento y estudio de una indol oxidasa en las hojas de vid que conduce a la formación de ácido antranílico.

MATERIALES Y METODOS

Preparación del enzima

Todas las operaciones se realizaron a temperaturas comprendidas entre 2 y 4°C.

Hojas frescas de vid fueron homogeneizadas con un volumen doble de su peso, de agua destilada y desionizada. Las hojas fueron previamente desprovistas de peciolo y nerviaciones mayores. La homogeneización se realizó en Omni Mixer Sorval. Una vez se obtuvo el homogenado se filtró por cuatro capas de gasa y el filtrado se centrifugó a 27000 g durante diez minutos. El claro sobrenadante constituyó el extracto crudo.

El extracto crudo se precipitó con sulfato amónico,recogiéndose por centrifugación la fracción comprendida entre el 30 y el 80% de saturación,redisolviéndose el precipitado en una solución bufer 0,01 M de citrato/0,02 M de fosfato que a continuación se pasó a través de una columna de DEAE-Sephadex A-50 (3,5 x 5 cm),previamente equilibrada con un bufer de redisolución.Las fracciones activas que eluyeron de la columna se reunieron y trataron con Alúmina Cy, en la proporción de 4 mg de gel por cada miligramo de proteína.El enzima,finalmente,se eluyó del gel con una solución bufer 0,1 M de citrato/0,2 M de fosfato pH 5,0 y constituyó el enzima purificado.

Medida de actividad de la indol oxidasa.

La actividad del enzima,se ensayó en tubos de vidrio Pyrex de 10 ml de capacidad,que contenían:400 nanomoles de indol,1 ml de solución bufer 0,1 M de citrato/0,2 M de fosfato bufer pH 5,0,enzima (0,2 a 0,4 ml) y agua destilada en la cantidad necesaria para completar un volumen total de 2 ml.En estas condiciones se incubaron a 30°C durante veinte minutos y al final del período de incubación,se añadieron a cada tubo 4 ml de tolueno con agitación.Con ello se detiene la reacción y el tolueno extrae el indol no oxidado.Finalmente en 1 ml de la capa de tolueno se determinó su contenido en indol mediante el reactivo de Ehrliché (19).

Como unidad enzimática se definió la cantidad de enzima que causaba la desaparición de 1 nanomol de indol a 30°C en veinte minutos. La actividad específica se definió como unidades por miligramo de enzima.

Determinación de proteínas.

El contenido en proteínas de las soluciones enzimáticas se realizó de acuerdo con el método de Lowry et al. usando BSA como patrón.

Aislamiento e identificación del producto de la reacción.

Una mezcla de reacción consistente en:enzima (aproximadamente de 5 a 8 mg de proteína),3 umoles de indol y 20 ml de solución bufer 0,1 M de citrato/0,2 M de fosfato pH 5,0,se incubó durante treinta minutos a 30°C.Al final del período de incubación,el pH de la mezcla se llevó al valor de 1 por la adición de la necesaria cantidad de ClH 2N.A continuación la mezcla se extrajo por tres veces con éter sulfúri

co exento de peróxidos y las capas etéreas reunidas se secaron sobre sulfato sódico anhidro. Posteriormente la solución etérea se evaporó a pequeño volumen y se cromatografió en papel Wahtman nº 3 utilizando como líquido de desarrollo las siguientes mezclas de solventes: i) Etanol:Amoníaco:Agua(18:1:1:v/v); ii) Butanol:Acido acético:Agua(4:1:1:v/v) y iii) Isopropanol:Amoníaco:Agua(20:1:2:v/v). El cromatograma fué visualizado a la luz ultravioleta y con el reactivo de Ehrlich's (19).

RESULTADOS Y DISCUSION=

La utilización de los procedimientos indicados en la sección de MATERIALES Y METODOS, ha permitido el aislamiento y la purificación de un enzima de las hojas de la Vitis vinífera L., causante de la rápida desaparición del indol de la mezcla de reacción. En la Tabla I quedan reflejados los datos correspondientes a dicha purificación en la que el enzima se ha purificado 69 veces.

Los intentos realizados para poner de manifiesto la presencia de Triptofano sintetasa, que conlleva también la desaparición del indol, en la presencia de L-serina y fosfato de piridoxal al pH óptimo para dicho enzima (pH de 7 a 8) resultaron infructuosos, lo que nos permitió asegurar que la citada desaparición de indol no tenía como causa la acción de dicho enzima.

TABLA I

Purificación de la indol oxidasa de hojas de Vitis vinífera L.

	Proteína total (mg)	Activ. total (unid)	Activ. espec. (un./mg)	Rend. %	Purif.
Crudo	1037,0	20022,0	19,3	100,0	- -
Saturación sulfato amónico 30-80%	80,5	3147,0	39,0	82,0	2,0
DEAE-Sephadex A-50	42,6	4348,0	45,0	45,0	5,3
Alúmina C _y (eluido)	0,63	840,0	1333,0	18,0	69,0

El estudio de los efectos del pH en el enzima purificado mediante la utilización de la solución bufer 0,1 M de citrato/0,2 M de fosfato en el intervalo de valores de 3 a 8, permitieron comprobar la mayor actividad entre 4,8 y 5,4 con un máximo correspondiente al valor de pH 5,0 (Fig 2).

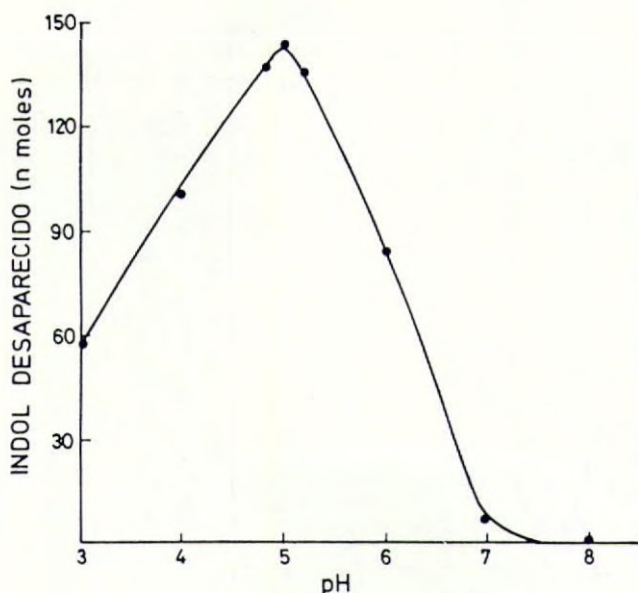


Fig.2.- Efectos del pH en la actividad de la indol-oxidasa purificada.

No obstante, para la confirmación de la naturaleza enzimática de la reacción se estudiaron los efectos del período de incubación y de la concentración de enzima. En el primer caso se pudo comprobar un incremento lineal de la desaparición del indol durante los primeros veinte minutos. En el segundo, las distintas concentraciones de enzima demostraron una relación hiperbólica entre el enzima añadido y la desaparición de indol a la concentración fijada de 400 nmoles por ensayo. (Fig. 3).

El enzima purificado es, por tanto, optimamente activo a pH 5,0 y 30°C con una concentración de sustrato de 400 nmoles. Dicho enzima purificado fue conservado durante un mes a -20°C, sin pérdida aparente de actividad.

La reacción de oxidación del indol tiene lugar bajo condiciones aeróbicas estrictas. Una demostración de este hecho es la nula desaparición de indol cuando a la mezcla en reacción se añadieron 60 μ moles de ditionito.

El enzima no es estrictamente específico para el indol. Otros compuestos derivados del mismo también son utilizados como sustrato

por el enzima (Tabla II).

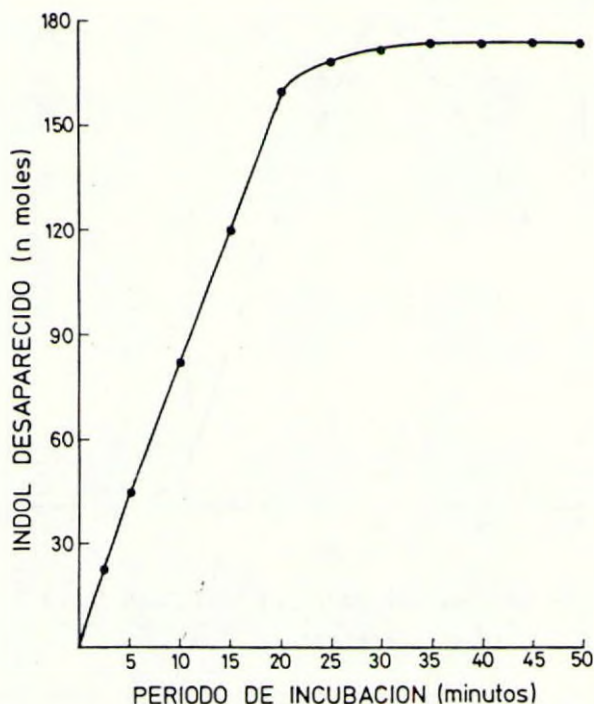


Fig.3.- Efectos del período de incubación en la utilización del indol por la indoloxidasas de hojas de vid.

La adición de diferentes metales a la mezcla en reacciones tales como Na^+ , NH_4^+ , K^+ , Ca^{+2} , Cu^{+2} , Mn^{+2} y Co^{+2} no causaron acción alguna sobre la actividad enzimática. Por el contrario Fe^{+2} y Hg^{+2} actuaron inhibiendo dicha actividad. Estos hechos y la acción de diferentes agentes quelatantes y otros compuestos, quedan recogidos en la Tabla III.

Los datos consignados en la Tabla III conducen a varias conclusiones. En primer lugar la inhibición por agentes quelatantes específicos del cobre (Neocuproína, Dietilditiocarbamato) y del Hierro (o-Fenantrolina y α, α -dipiridilo) es demostrativa de la existencia de estos dos metales en la constitución del enzima. Sin embargo, cuando el enzima se dializó durante 24 horas frente a tres cambios de la solución bufer, la adición de estos dos metales no condujo a la recuperación de la actividad salvo cuando ésta se acompañó de 0,7 mmoles de

FAD. Este hecho conjuntamente con la inhibición de la atebрина y la recuperación de la actividad cuando conjuntamente con ella se añadió FAD, pone de manifiesto que el enzima es una cuproferroflavoproteína. La utilización de otros cofactores como FMN, NADH y NADP no fue capaz de revertir la inhibición. La inhibición de la actividad enzimática por ditionito puso de manifiesto la naturaleza oxidativa de la reacción.

TABLA II

Especificidad de sustrato de la indoloxidasas de hojas de Vitis vinífera L.

Sustrato	% Actividad
Indol	100
2-Metil indol	0
5-Metil indol	33
5-Hidroxindol	25
5-Bromo indol	7,5
Triptofano	0
Ac. indol acético	0
Ac. indol butírico	0
Ac. indol pirúvico	0
Ac. indol glioxílico	0
Indol etanol	0
Indol acetonitrilo	0

Otros compuestos como los constituidos por grupos tiólicos y reactivos del grupo sulfhidrilo, se comportaron también como inhibidores de la actividad enzimática según puede comprobarse en la Tabla IV.

El estudio de los compuestos originados por la reacción oxidativa realizados por cromatografía de acuerdo con lo expuesto en la sección MATERIALES Y METODOS condujo a la apreciación de un compuesto que fue identificado como ácido antranílico, de acuerdo con las características siguientes: i) Su espectro de absorción en etanol corresponde al de una muestra auténtica de ácido antranílico ($\lambda_{\text{máx.}}$ 333 nm); ii) En los tres sistemas de solventes utilizados tiene el mismo valor de Rf que el auténtico; iii) Responde de igual forma que el auténtico en el revelado del cromatograma frente a los reactivos de Ehrlich's, Salkowskis y ácido trinitrobencensulfónico.

TABLA III

Acción de metales, agentes quelantes y otros compuestos sobre la actividad de la indol-oxidasas de hojas de *Vitis vinífera* L.

A d i c i ó n	Concentración final	Inhibición %
Fe ²⁺ (Cl ⁻)	1 m mol.	24
Hg ²⁺ (Cl ⁻)	1 m mol	100
Neocuproina	2,5 µ moles	100
Dietilditiocarbamato	2,5 µ moles	100
o-Fenantrolina	2,5 µ moles	100
α,α-Dipiridilo	2,5 µ moles	100
8-Oxiquinoleina	2,5 µ moles	100
EDTA	2,5 µ moles	78
CNK	2,5 µ moles	79
Neocuproina +	2,5 µ moles	
SO ₄ Cu	0,5 µ moles	65
α,α-Dipiridilo +	2,5 µ moles	
Cl ₂ Fe	0,5 µ moles	70
Enzima dializado		100
Enzima dializado +		
SO ₄ Cu	0,5 µ moles	100
Enzima dializado +		
SO ₄ Cu +	0,5 µ moles	
Cl ₂ Fe	0,5 µ moles	100
Enzima dializado +		
SO ₄ Cu +	0,5 µ moles	
Cl ₂ Fe +	0,5 µ moles	
FAD	0,7 m moles	22
Atebrina	0,5 µ moles	100
Atebrina +	0,5 µ moles	
FAD	0,7 µ moles	10
Ditionito	60 µ moles	100

TABLA IV

Efectos de grupos tiólicos y reactivos sulfhidrilo sobre la actividad de la indoloxidasas de hojas de Vitis vinífera L..

Compuesto añadido (2,5 μ moles)	% Actividad
Ninguno	100
G S H	23
Mercaptoetanol	16
p-Cloromercuribenzoato	0
N-Etilmaleimida	0
Iodo acetato	36

Digamos por último que de acuerdo con lo preconizado por Lineweaver y Burk el enzima presenta un valor de K_m de $1,25 \cdot 10^{-6}$.

BIBLIOGRAFIA

- (1).-CRAWFORD, I.P. and YANOFSKY, C. Proc. Natl. Acad. Sci. 44, 1161-1170, (1958).
- (2).-YANOFSKY, C. and CRAWFORD, I.P. Idem, 45, 1016-1026, (1959).
- (3).-YANOFSKY, C. Bacteriol. Rev. 24, 221-245, (1960).
- (4).-CRAWFORD, I.P. and GUNSALUS, I.C. Proc. Natl. Acad. Sci. 56, 717-724, (1966).
- (5).-HUTTER, R. and DEMOSS, J.A.J. Bacteriol. 94, 1896-1907, (1967).
- (6).-CRAWFORD, I.P. Bacteriol. Rev. 39, 87-120, (1975).
- (7).-DELMER, D.P. and MILLS, S.E. Biochim. Biophys. Acta. 167, 431-443, (1968).
- (8).-WIDHOLM, J.M. Idem. 261, 44-51, (1972).
- (9).-WIDHOLM, J.M. Idem. 320, 217-226, (1973).
- (10).-CHEN, J. and BALL, W.G. Canadian J. Bot. 49, 1155-1163, (1971).
- (11).-NAGAD, R.T. and MOORE, T.C. Arch. Biochem. Biophys. 149, 402-413, (1972).
- (12).-SINGH, M. and WIDHOLM, J.M. Physiol. Plant. 32, 240-246, (1975).
- (13).-SPRINCE, H. Clin. Chem. 7, 203-230, (1961).
- (14).-SPRINCE, H. Ann. NY. Acad. Sci. 96, 399-418, (1962).
- (15).-SAKAMOTO, M.; UCHIDA, M. and ICHIARA, K. Med. J. Osaka Univ., Japan 3, 477-486 (1953).
- (16).-NAIR, P.M. and VAIDYANATHAN, C.S. Biochem. Biophys. Acta. 81, 496-506, (1964).
- (17).-DIVAKAR, N.G. et al. Plant. Sci. Letters, 177-181, (1979).
- (18).-CHAUHAN, Y.S. et al. Biochem. Biophys. Res. Comm. 83, 1237-1245, (1978).
- (19).-STANLEY, A.R. and SPRAY, R.S.J. Bacteriol. 41, 251-257, (1941).

ESTUDIO DE LA FERTILIZACION DIFERENCIADA EN LA VID. EVOLUCION DE AZÚCARES, ÁCIDOS ORGÁNICOS Y FRACCIONES NITROGENADAS EN HOJAS

Catalina, L., Mazuelos, C., Sarmiento, R., Romero, R. y Valpuesta, V.
Centro de Edafología y Biología Aplicada del Cuarto. CS.I.C. Sevilla.

Resumen

Se han estudiado los contenidos en azúcares, ácidos orgánicos y fracciones nitrogenadas en hojas de vid (*Vitis vinífera* L. var. Palomino fino) desde la pre-floración hasta la vendimia. No se encuentran diferencias muy sensibles en el contenido de azúcares en hojas cuando las plantas son fertilizadas diferencialmente con N, P y K. Los contenidos en ácido málico aumentan hasta la maduración para disminuir en la vendimia. La variabilidad del ácido tartárico es explicable por la partiz sequía que hemos padecido. Las plantas no presentan deficiencias en nutrientes y por tanto no afectan al metabolismo nitrogenado.

Introducción

Los contenidos y evolución de azúcares, ácidos orgánicos y fracciones nitrogenadas son de la mayor importancia en la vid.

Los azúcares en frutos de vid, en el momento de la vendimia, están relacionados íntimamente con la calidad de los mismos (17 y 19). El papel jugado por los nutrientes en el metabolismo de los azúcares, ha sido profundamente estudiado a causa de su importancia en el crecimiento del fruto y su desarrollo (22).

El metabolismo de los ácidos málico y tartárico ha sido ampliamente estudiado en los frutos (10, 11 y 20) y en menor proporción en las hojas, en las que su síntesis tiene lugar a partir de los glúcidos, especialmente la glucosa, aunque por rutas metabólicas diferentes (20), presentándose diferencias profundas en los contenidos de los citados

ácidos en la vid, en función de la variedad y de las condiciones ambientales que rodean al cultivo (11 y 21).

El contenido de nitrógeno en los frutos de la vid, en el momento de la cosecha, además de constituir un alimento fundamental para las levaduras de la fermentación, va a influenciar el contenido en los vinos de compuestos tales como ácidos orgánicos (12 y 21), alcoholes superiores (12 y 18) y ésteres (3 y 18) entre otros).

En la presente comunicación se dan los resultados encontrados en el contenido de azúcares, ácido málico, ácido tartárico y fracciones nitrogenadas en hojas de *Vitis vinífera* var. Palomino fino y de la influencia que sobre aquéllos puedan ejercer los fertilizantes Nitrógeno, Fósforo y Potasio.

Material y Método

Los estudios se han realizado en plantas de vid (*Vitis vinífera* var. Palomino fino) cultivadas en la zona de Jerez de la Frontera (Cádiz), sobre un suelo calcimorfo sobre albarizas (regosol calcáreo). Cada parcela estaba constituida por 100 cepas que habían recibido fertilización diferenciada de N (40 y 80 Kg/Ha de N), P (40 y 120 Kg/Ha de P_2O_5) y K (40 y 160 Kg/Ha de K_2O). Una de las parcelas se había mantenido como testigo, sin fertilizar.

A lo largo del ciclo vital de la planta, se han realizado 6 tomas de muestras de hojas, coincidentes con los estadios de mayor interés, es decir: pre-floración, floración, fructificación, envero, maduración y vendimia.

Los métodos de extracción de azúcares y ácidos orgánicos ya han sido descritos en trabajos previos (13 y 14). En las disoluciones extraídas se determinaron los contenidos en azúcares totales (2), azúcares reductores (23), glucosa y fructosa (4), ácido málico (15) y ácido tartárico (8).

De igual manera, los métodos de extracción y determinación de nitrógeno total, nitrógeno protéico, aminoácidos libres y prolina han quedado expuestos en un trabajo anterior (5).

Resultados y Discusión

Los contenidos y evolución en azúcares totales en las hojas de vid en los seis estadios fenológicos de la planta, se expresan en la Fig. 1. Como puede observarse, la disminución es continua desde la pre-floración hasta la fructificación, con un mínimo en esta etapa, para aumentar hasta la vendimia, ocurriendo este hecho tanto en las plantas control como en las fertilizadas.

Es bien sabido que, previamente al envero, los azúcares son sintetizados en el mismo fruto. Con la maduración, este proceso declina rápidamente y como consecuencia el transporte desde las hojas y el metabolismo del ácido málico en los frutos, se convierten en las fuentes principales de azúcares durante el post-envero (19, 20 y 21). Este transporte de hojas a frutos está disminuido en nuestro caso y la explicación podría ser la pertinaz sequía que hemos padecido y como consecuencia la baja translocación de estos compuestos de uno a otro órgano.

En la Fig. 2 se expresan los contenidos en azúcares reductores correspondientes a las mismas tomas de muestras. Salvo en la etapa pre-floracional, en donde los niveles son altos, en los demás períodos las diferencias no son muy significativas, manteniéndose casi un nivel constante tanto en las plantas control como en las fertilizadas, lo que confirma su papel de azúcar que va a ser utilizado inmediatamente.

En la Fig. 3 se muestran los contenidos en glucosa y fructosa correspondientes a los mismos estadios anteriormente citados. En general, la relación glucosa/fructosa, es superior a 1. Este hecho puede ser explicado por un incremento en la hidrólisis del almidón y por un aumento en la fotosíntesis, sobre todo en las hojas verdes, dando como

AZUCARES TOTALES

mg/g p. s.

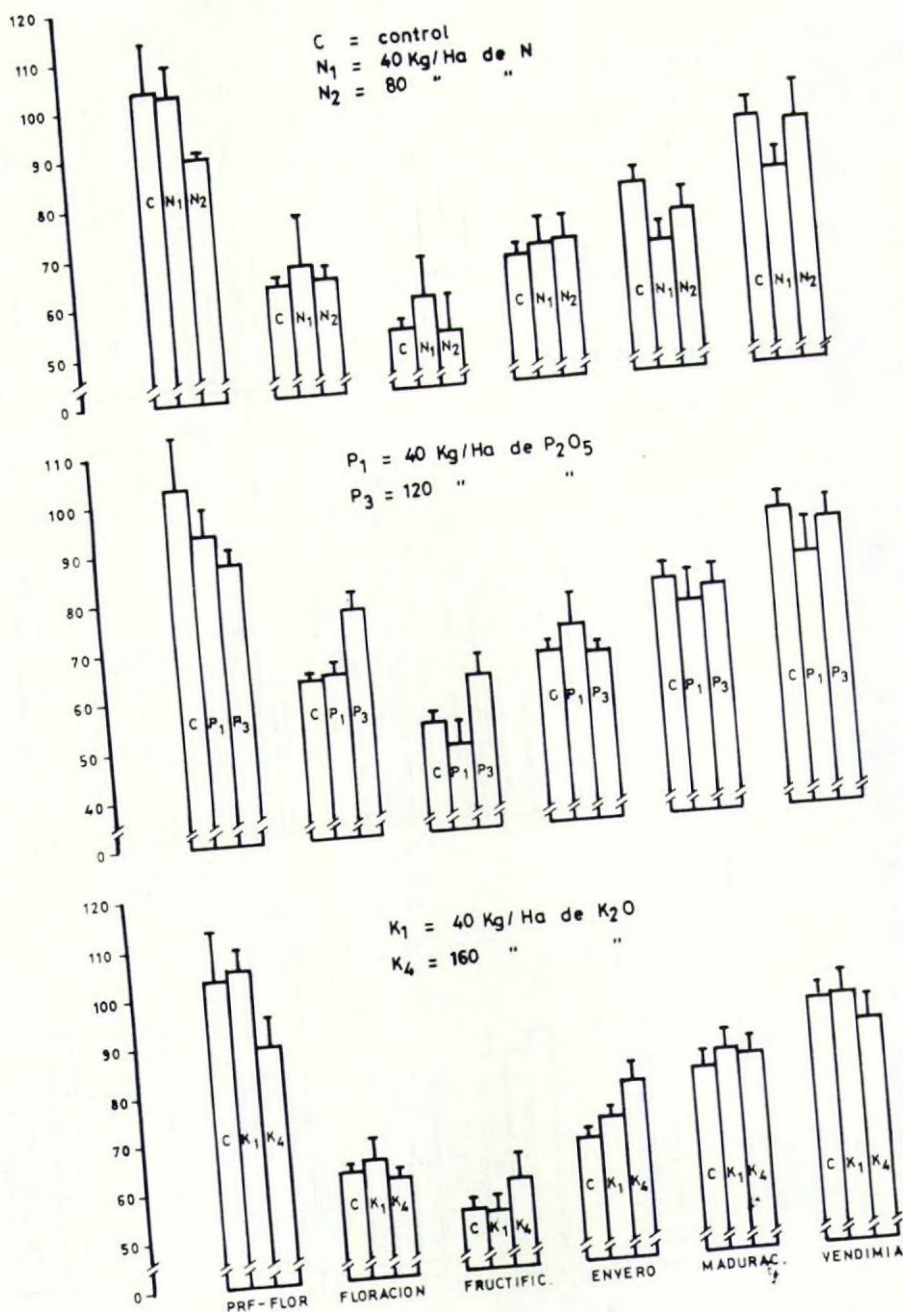


Fig. 1

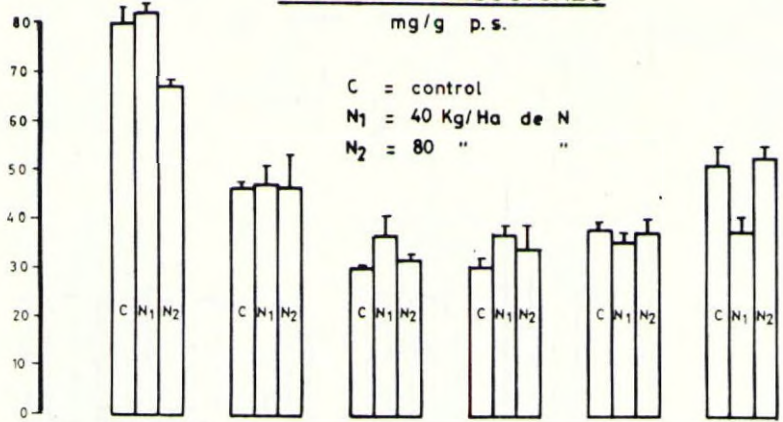
AZUCARES REDUCTORES

mg/g p.s.

C = control

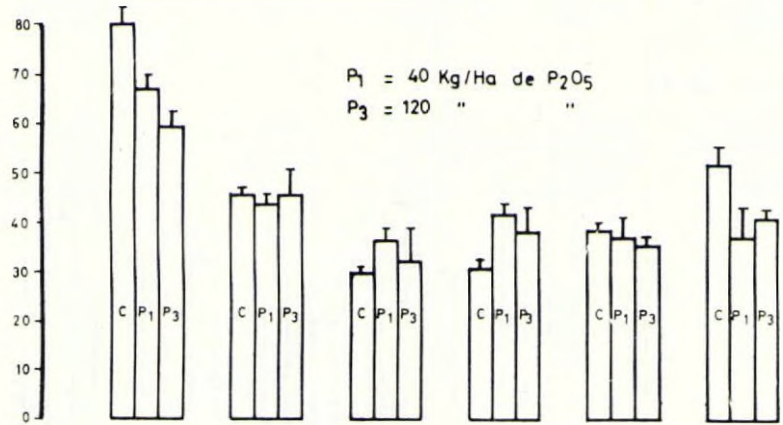
N₁ = 40 Kg/Ha de N

N₂ = 80 " "



P₁ = 40 Kg/Ha de P₂O₅

P₃ = 120 " "



K₁ = 40 Kg/Ha de K₂O

K₄ = 160 " "

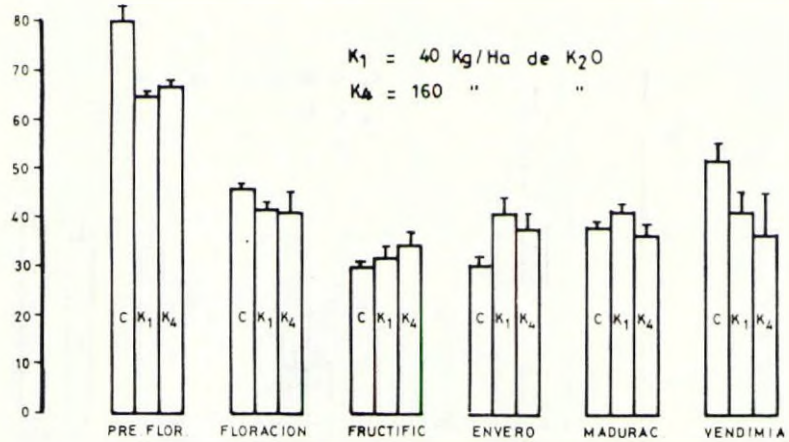


Fig. 2

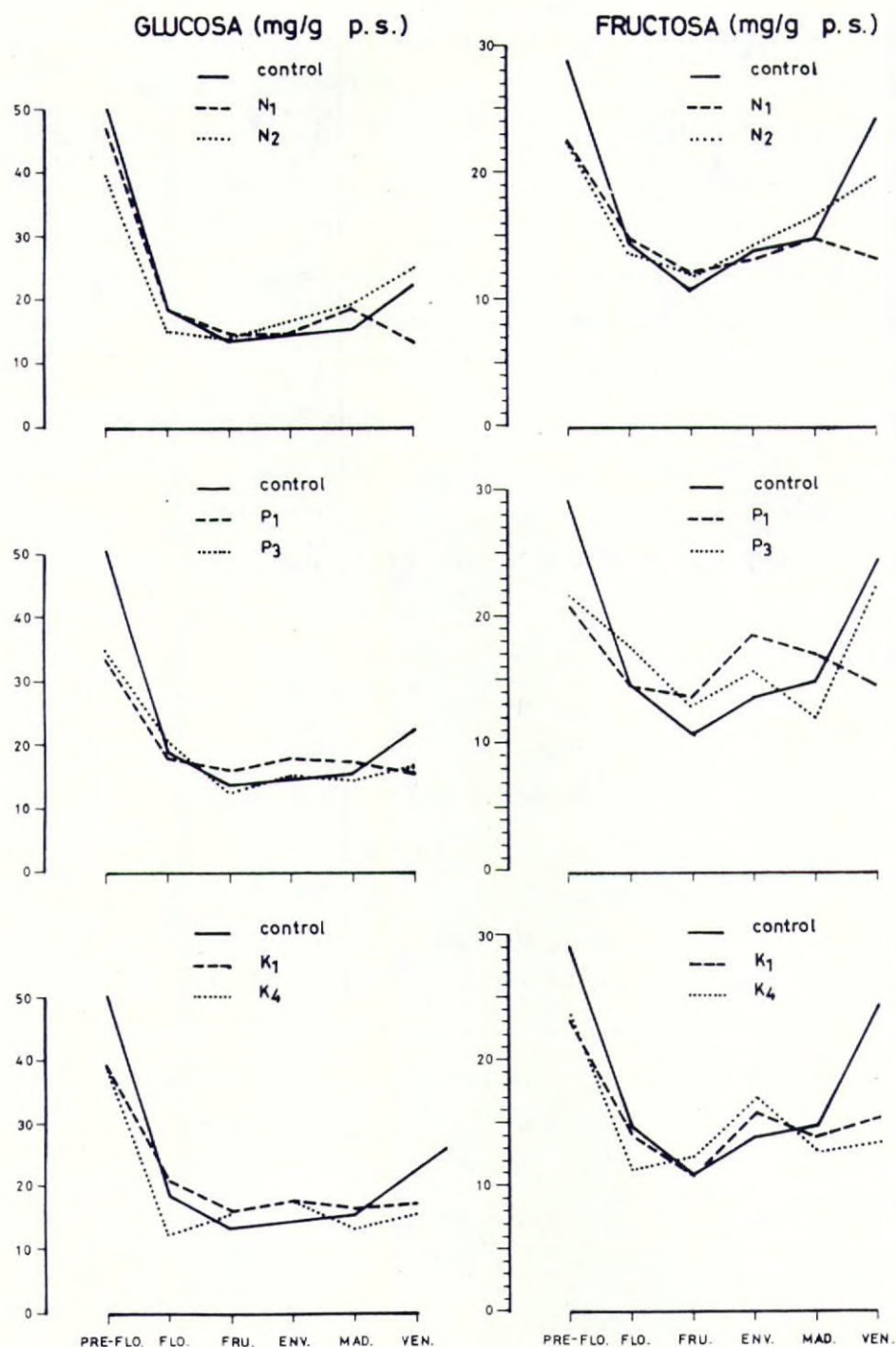


Fig. 3

resultado un mayor contenido en glucosa que en fructosa (10). En relación a la disminución de la relación glucosa/fructosa en hojas cuando los frutos maduran, existen procesos que tienden a justificarlo, como son, un metabolismo disminuido del ácido málico a glucosa (22) y un preferencial metabolismo de ésta (7 y 21). Quizás este último hecho sea más factible en aquellos casos de plantas fertilizadas con P (como ocurre en nuestra experiencia) puesto que un alto suministro de este elemento puede incrementar la metabolización de la glucosa a través de un alto nivel de ATP (1).

En resumen, no se encuentran diferencias muy sensibles en el contenido de fracciones de azúcares en las hojas de vid estudiadas cuando son fertilizadas con N, P y K frente al control no abonado, extremo éste que podría explicarse a causa de que sólo plantas deficientes en nutrientes dan como resultado cambios drásticos en el contenido de azúcares (22) y probablemente éste no es nuestro caso.

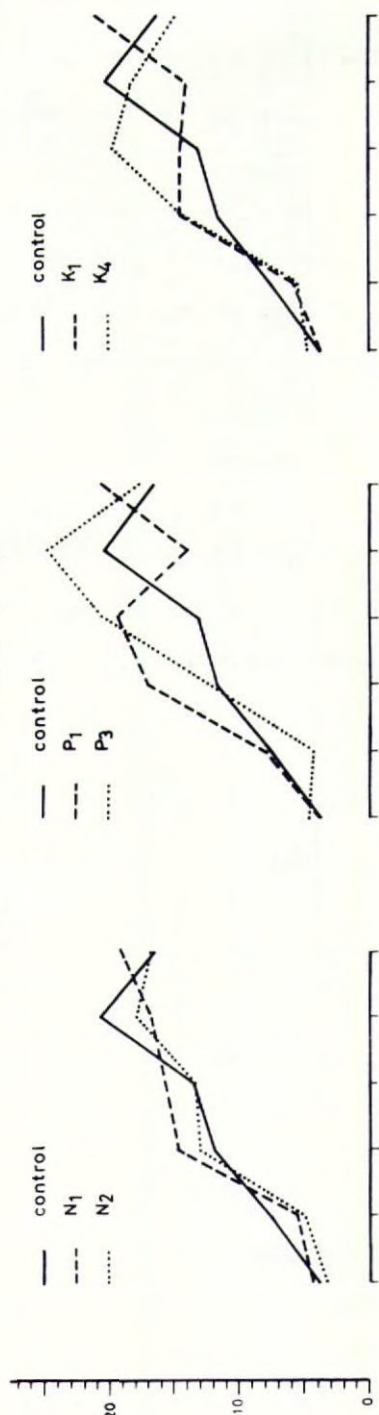
En la Fig. 4 se representan los valores de ácido málico y tartárico en hojas en los diferentes estados de desarrollo.

Con respecto al ácido málico, se observa un aumento continuo de los contenidos hasta la época de la maduración, para disminuir a continuación en la vendimia. Estos resultados están de acuerdo con la bibliografía sobre el aumento constante del citado ácido en las hojas de vid, hasta que éstas están totalmente desarrolladas (9) y una disminución en la vendimia debida a su transporte al tejido leñoso (10).

No obstante, se puede observar que, cuando el abonado está en menor proporción, el contenido del ácido málico aumenta en la etapa de la vendimia, lo cual ya ha sido observado previamente (20).

El ácido tartárico presenta, dentro de una misma tónica para los distintos abonados, una gran variabilidad a lo largo del ciclo estudiado, confirmando esto la opinión ya señalada de que los contenidos de dicho ácido dependen estrechamente de la temperatura y sobre todo del contenido en agua de las capas del suelo (21).

ACIDO MALICO (mg/g p.s.)



ACIDO TARTARICO (mg/g p.s.)

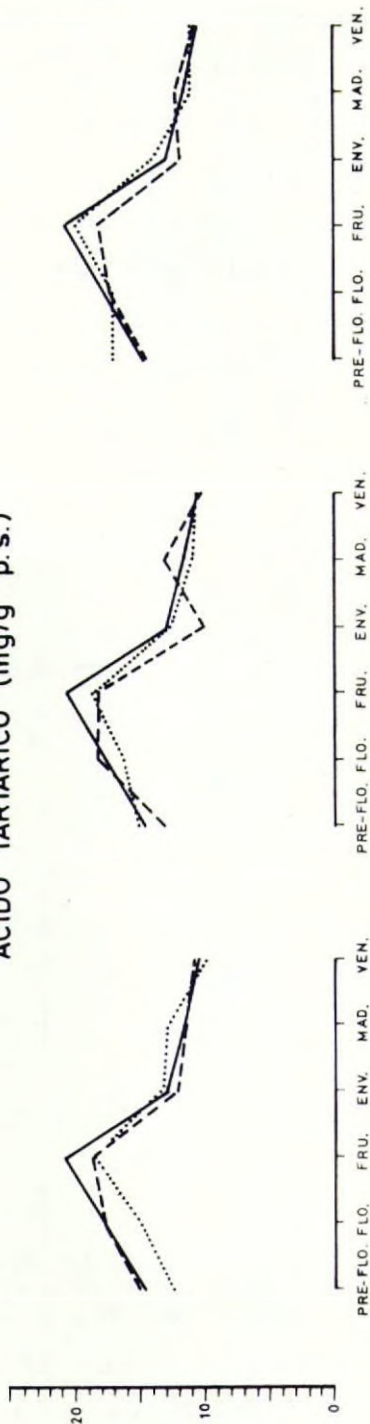


Fig. 4

En nuestra experiencia, el contenido de dicho ácido en hojas se incrementa en todos los casos hasta la fructificación, lo que coincide con lo encontrado en la variedad "Thompson seedless" (9), para disminuir progresivamente hasta la vendimia, lo cual ya ha sido observado (10).

El contenido en nitrógeno total disminuye constantemente desde la pre-floración hasta la vendimia como se observa en la Fig. 5. Es evidente que esta disminución está ligada al proceso de senescencia de las hojas y a la exportación de nutrientes que de las mismas existe a lo largo del ciclo vital de la planta, lo que confirma el hecho de que el nitrógeno total de los frutos aumenta continuamente (6 y 20).

En relación con el nitrógeno protéico (Fig. 5), el contenido en las plantas control alcanza un mínimo en la fructificación, debido, sin duda, a que el crecimiento del fruto demanda la exportación de nutrientes desde las hojas. Este contenido vuelve a aumentar en el envero y posteriormente, al sustituir la maduración al crecimiento, disminuye hasta la vendimia.

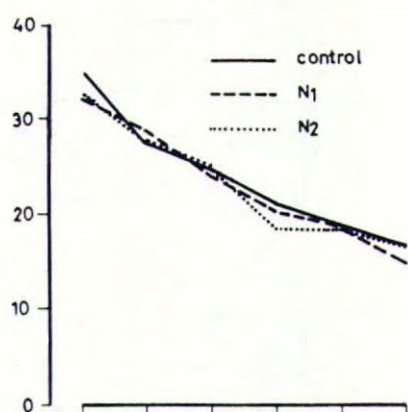
Antes del envero, en las plantas fertilizadas, existe un contenido en nitrógeno protéico mayor que en las plantas control, para después ser menor. La explicación general de este hecho podría ser una mayor demanda de nutrientes por los frutos, en la medida de que en todos los tratamientos, se ha observado un incremento en la producción.

La disminución del nitrógeno protéico en la maduración va acompañada de un incremento en el contenido de aminoácidos libres, sobre todo en las plantas abonadas con N y P (Fig. 6). Salvo este aumento, ya señalado en la bibliografía (16), el contenido de aminoácidos disminuye progresivamente a lo largo del ciclo estudiado.

El contenido en prolina, oscila entre un 3 y un 8 % del total de aminoácidos y sigue, en general, la misma evolución que éstos.

En resumen, tras el análisis de las hojas, ninguna planta muestra deficiencias en nutrientes y consecuentemente la aplicación de ferti-

NITROGENO TOTAL (mg/g p. s.)



NITROGENO PROTEICO (mg/g p. s.)

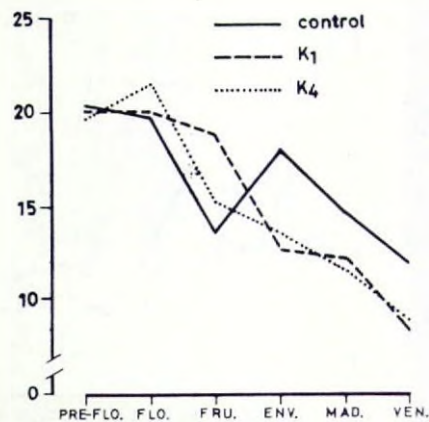
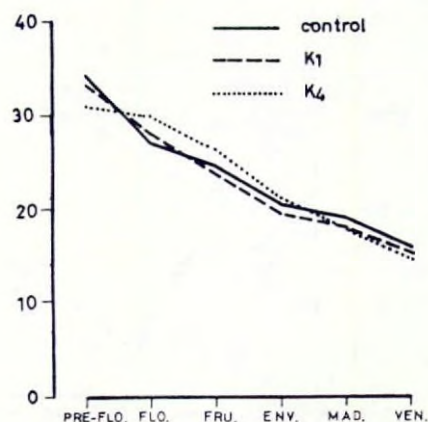
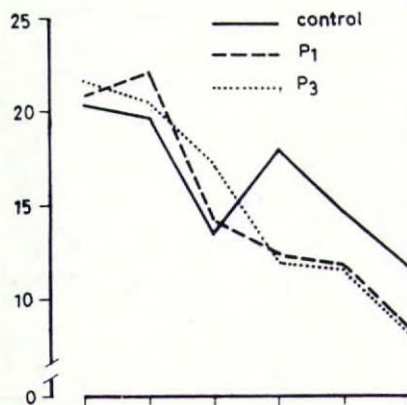
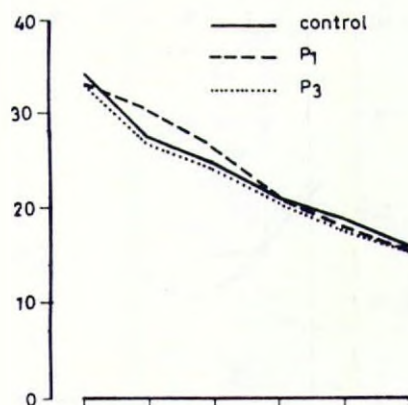
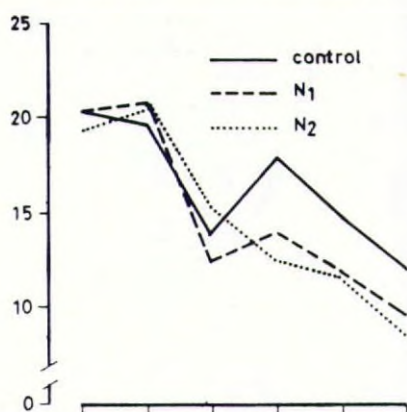
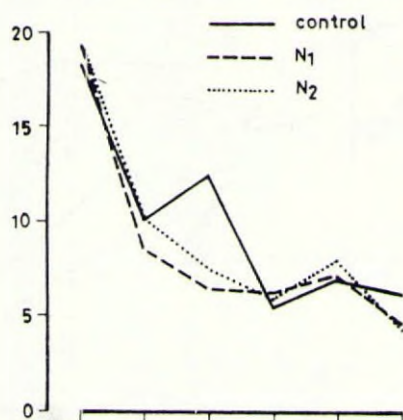


Fig. 5

AMINOACIDOS LIBRES (mg/g p.s.)



PROLINA (mg/g p.s.)

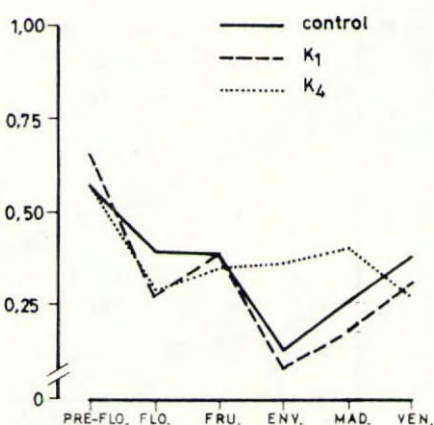
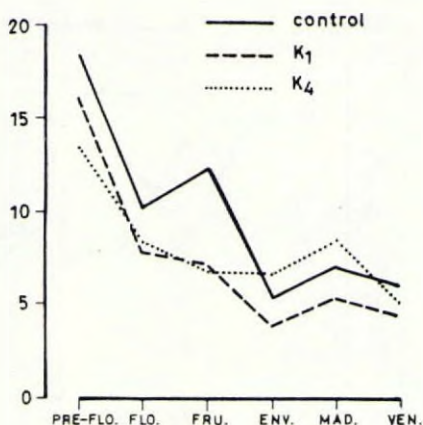
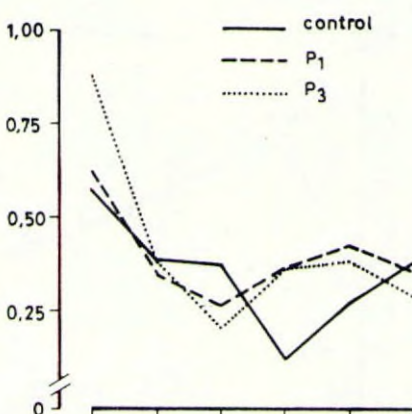
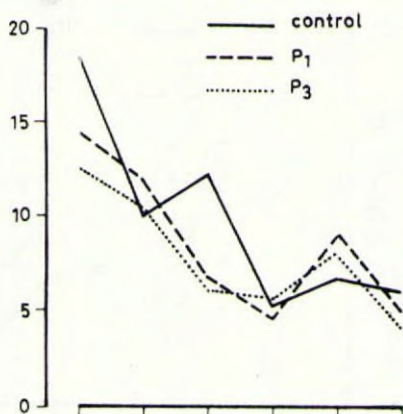
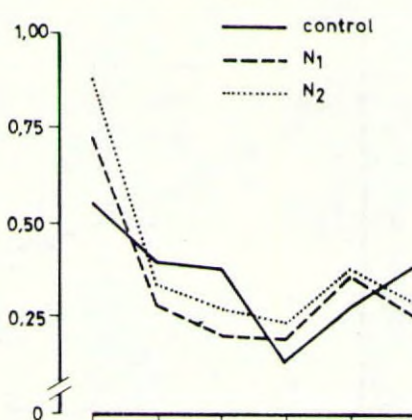


Fig. 6

lizantes no afecta drásticamente al metabolismo nitrogenado de las plantas.

Bibliografía

- (1) ARNON, D.I. *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 7, 325-354 (1956).
- (2) ASHWELL, G. "Methods in Enzymology". Vol. VIII. Academic Press, New York (1966).
- (3) BELL, A.A., OUGH, C.S. and KIEWER, W.M. *Am. J. Enol. Vit.* 30, 124-129 (1979).
- (4) BERGMAYER, H.U., BERNT, E., SCHMIDT, F. and STORK, H. "Methods of enzymatic analysis". Vol. 3. Academic Press, New York and London (1974).
- (5) CATALINA, L., SARMIENTO, R., ROMERO, R., VALPUESTA, V. y MAZUELOS, C. *An. Edaf. Agrob.* 40, 667-675 (1981).
- (6) CATALINA, L., MAZUELOS, C., ROMERO, R. y SARMIENTO, R. *An. Edaf. Agrob.* 41, 1503-1511 (1982).
- (7) HARDY, P.J. *Plant Physiol.* 43, 224-227 (1968).
- (8) HILL, G. and CAPUTI, Jr. A. *Am. J. Enol. Vit.* 21, 153-161 (1970).
- (9) KIEWER, W.M. and NASSAR, A.R. *Am. J. Enol. Vit.* 17, 48-57 (1966).
- (10) KIEWER, W.M. *Plant Physiol.* 41, 923-931 (1966).
- (11) KIEWER, W.M. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 96, 372-377 (1971).
- (12) KLUBA, R.M., MATTICK, L.R. and HACKLER. *Am. J. Enol. Vit.* 29, 102-111 (1978).
- (13) MAZUELOS, C., SARMIENTO, R., VALPUESTA, V., CATALINA, L. y ROMERO, R. *An. Edaf. Agrob.* 40, 897-904 (1981).
- (14) MAZUELOS, C., ROMERO, R., VALPUESTA, V., SARMIENTO, R. y CATALINA, L. *An. Edaf. Agrob.* 41, 675-679 (1982).
- (15) MOLLERING, H. "Methods of enzymatic analysis". Vol. 3. 2nd ed. Academic Press, New York and London (1974).
- (16) NASSAR, A.R. and KIEWER, W.M. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 89, 281-294 (1966).
- (17) OUGH, C.S. and SINGLETON, V.L. *Am. J. Enol. Vit.* 19, 129-138 (1968).
- (18) PEREZ RODRIGUEZ, L. "Formación y evolución de alcoholes superiores y otros componentes en vinos de Jerez". Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias. Universidad de Sevilla. (1979).

- (19) PEYNAUD, E. and RIBEREAU-GAYON, P. "Biochemistry of fruits and their products". Academic Press, London (1971).
- (20) RIBEREAU-GAYON, J. et PEYNAUD, E. "Sciences et techniques de la vigne". Tome I. Dunod, Paris (1971).
- (21) RIBEREAU-GAYON, J., PEYNAUD, E., RIBEREAU-GAYON, P. et SUDRAUD, P. "Sciences et techniques du vin". Tome II. Dunod, Paris (1975).
- (22) SINGH, J.N. and SINGH, D.P. *Physiol. Plant.* 21, 1341-1347 (1968).
- (23) SPIRO, R.G. "Methods in Enzymology". Vol. VIII. Academic Press, New York (1966).

COMPARACION DEL COMPORTAMIENTO REOLOGICO Y VOLUMEN ESPECIFICO DE MOSTOS CONCENTRADOS DE UVA FRENTE A DISOLUCIONES ACUOSAS DE GLUCOSA Y FRUCTOSA.

Galán Vallejo, M.; Andrades Bálao, J.A. y López Torres, M.A.

Departamento de Química Técnica de la Universidad de Cádiz.

La Reología, definida como la ciencia del flujo y la deformación, experimenta actualmente un gran desarrollo, tanto por la adopción de nuevos criterios y modelos, como por la diversidad de aplicaciones que posee.

El estudio del comportamiento reológico de los zumos y mostos concentrados de uva contribuye a un mejor conocimiento de los mismos, a la vez que los resultados obtenidos pueden ser aplicados:

- a) En la elaboración industrial de estos productos, por cuanto ayudan a establecer los requerimientos energéticos para las operaciones de mezcla y transporte, así como los coeficientes de transporte de calor y materia, en esterilizadores y evaporadores.
- b) En el control de calidad, ya que la viscosidad de estos productos influye en la aceptación de los mismos en el mercado.
- c) Como criterio comparativo para valorar la incidencia de dos o más sistemas de elaboración o conservación.

De los productos obtenidos a partir de la uva, el vino, sin lugar a dudas, es el más importante; sin embargo, en la actualidad la producción mundial de vino crece a un ritmo mucho más rápido que el de su consumo. Concretamente, la producción española creció a un ritmo próximo al 3% anual en los últimos veinte años, mientras que el consumo ha disminuido un 15% en los diez últimos años.

Para mantener el equilibrio entre la producción y el consumo, gran parte de los excedentes de vino se destinan a la obtención de alcohol vínico. La producción de este alcohol es importante en España y Francia ya que se utiliza en la preparación de bebidas con elevado contenido alcohólico como "brandies" y "cognacs"; no obstante, el mercado de estos alcoholes se encuentra también saturado.

A pesar de ello, la fórmula empleada para regular los excedentes sigue siendo el "quemar" incluso vinos de gran calidad, tal y

Los valores de viscosidad se expresan en mPa.s (milipascales.segundo).

Sistema de termostatización.

la termostatización de las muestras se ha efectuado utilizando un termo-criostato Thermomix de la firma BRAUN que permite mantener la temperatura con un error inferior a $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ en el intervalo de temperatura estudiado.

Productos:

Disoluciones acuosas de glucosa y fructosa: se ha preparado por pesada una disolución acuosa de glucosa y fructosa de 37 Be y a partir de ella por dilución se han preparado las demás disoluciones: 36,35,34,33, 32,31,30,25,19,16,10 y 6°Bé. Se ha empleado en la preparación de dichas disoluciones agua destilada y, glucosa y fructosa, productos "para análisis" de la firma MERCH.

Mosto concentrado: el mosto de uva concentrado procede de una instalación industrial de Tomelloso (Ciudad Real) siendo la materia prima utilizada mosto de uva de La Mancha. Las características del mosto concentrado son:

- Grado Baumé 38,2
- Bitartratos 6 g/l
- Sulfuroso libre 38,0 mg/l
- Sulfurosos total 480,0 mg/l
- Hierro 24,0 mg/l
- Acidez total en sulfúrico 9,0 g/l

Los mostos de diferentes grados Baumé se han preparado por dilución del concentrado con agua destilada.

RESULTADOS EXPERIMENTALES

Los resultados experimentales correspondientes a los productos estudiados se recogen en las Tablas I y II.

DISCUSION DE RESULTADOS

Para cada temperatura los valores correspondientes a los volúmenes específicos de todas las disoluciones y mostos estudiados presentan una correlación lineal frente al grado Baumé que puede expresarse como:

$$V_{\text{esp.}} = V_0 + V_1 \cdot \text{Be} \quad /1/$$

En la Tabla III se indican para las distintas temperaturas los valores de los parámetros V_0 y V_1 de la regresión /1/ junto con

se indica en la resolución del Consejo de Ministros de 1 de Junio de 1983, destinando 310.000 Hl. de vinos acogidos a la Denominación de Origen "Jerez-Xerex-Sherry y Manzanilla de Sanlúcar de Barrameda" a la obtención de alcohol de vino.

Se han propuesto otras medidas para paliar el problema de los excedentes de uvas de entre las que cabe destacar la canalización de los mostos a fines no fermentativos, y dentro de éstas, una orientación interesante para el mosto de uva es su utilización para obtener mostos concentrados. Se concentra el mosto para facilitar su conservación; reducir el volumen y los costos de transporte y aumentar el número de aplicaciones de las que se pueden destacar:

- Enriquecimiento de los mostos de vendimia.
- Preparación de bebidas refrescantes.
- Por dilución y posterior fermentación para obtener vino.
- Preparación de bebidas a base de uvas con bajo contenido alcohólico.
- Preparación de mermeladas, jaleas, zumos, etc.

En este trabajo se ha abordado el estudio del comportamiento reológico y volumen específico de mostos concentrados de uvas de 6 a 37 Baumé, entre 273 y 313 K, comparándolos con disoluciones acuosas de glucosa y fructosa de los mismos grados Baumé y en el mismo rango de temperatura. En las disoluciones acuosas de glucosa y fructosa, la relación entre ellas ha sido de 0,95 en peso, que es la que se da aproximadamente en el zumo de uva madura de las *Vitis Vinífera*.

MATERIAL Y METODO

Sistemas de medida.

Determinación de la densidad: se han utilizado picnómetros de 50 ml., los valores se expresan en g/ml.

Determinación de la viscosidad: todas las muestras, a la temperatura de 0°C, se han sometido inicialmente a estudio en un reómetro RV-12 de la firma HAAKE, con objeto de conocer su comportamiento reológico (1). En todos los casos el comportamiento ha sido newtoniano.

Por ello, el estudio posterior de medida de la viscosidad, a diferentes temperaturas, se ha realizado en un viscosímetro de caída de bola por tubo inclinado, tipo HOEPLER de la firma HAAKE. En todos los casos las muestras han permanecido en el interior del viscosímetro durante treinta minutos para ser termostatzadas a la temperatura deseada.

sus errores para una probabilidad $P=0,05$ y el coeficiente de correlación de cada regresión. En la misma tabla se indican los valores del volumen específico del agua destilada a las diferentes temperaturas, " V_o exp."

Admitiendo un comportamiento ideal para las disoluciones de glucosa y fructosa, así como de los mostos, " V_o " debe corresponder en cada caso al volumen específico del agua determinado experimentalmente " V_o exp.". A la vista de los valores reflejados en dicha Tabla III se puede afirmar que este comportamiento ideal se cumple en todas las disoluciones y mostos estudiados dentro de los límites de confianza establecidos, excepto para las temperaturas de 273 y 278°K. Esta excepción puede ser debida a los importantes cambios estructurales que ocurren en el agua en torno a 273°K que no son tan acusados en las disoluciones y mostos estudiados por cuanto tienen un punto de congelación mucho más bajo.

Entre el volumen específico de las disoluciones y mostos estudiados, y la temperatura se ha encontrado una relación del tipo:

$$V_{\text{esp.}} = a + b.T + c.T^2 \quad /2/$$

donde T es la temperatura absoluta. En todos los casos el grado de significación de la correlación es elevado y los valores de los parámetros son: "a" oscila entre 0,8 y 1,1; "b" es del orden de -1.10^{-3} y "c" es del orden de 10^{-6} .

En la Tabla IV se indican los valores a 293°K del volumen específico experimental y del volumen específico obtenido de la correlación /2/, correspondientes a las disoluciones y mostos estudiados. Se observa en dicha tabla como coinciden los valores experimentales de los volúmenes específicos con los obtenidos de la correlación.

Los resultados experimentales de viscosidad indican que tanto las disoluciones como los mostos se comportan como fluidos "newtonianos termicamente normales" por cuanto los valores de viscosidad disminuyen al aumentar la temperatura.

También se observa que los valores de viscosidad correspondientes a las disoluciones y los mostos, del mismo grado Baumé, tienden a igualarse al disminuir la concentración y aumentar la temperatura.

Existe un marcado descenso de los valores de viscosidad con la temperatura en las disoluciones y mostos para cada grado Baumé, siendo más acusado en los casos de grado Baumé elevado. Si se define un

porcentaje de descenso relativo de la viscosidad con la temperatura " $\Delta\eta$ " como:

$$\% \Delta \eta = \frac{\eta_{273} - \eta_{313}}{\eta_{273}} \cdot 100 \quad /3/$$

este porcentaje disminuye desde el 96% para una concentración de 37 Be hasta el 65% para 6°Be en las disoluciones y los mostos.

Entre los valores de viscosidad de las disoluciones y los mostos, y la temperatura se ha encontrado una relación del tipo:

$$\ln \eta = A + (1/T) \cdot B + (1/T)^2 \cdot C \quad /4/$$

siendo en todos los casos elevado el coeficiente de correlación (0,999)

Se ha encontrado una correlación del tipo:

$$\ln \eta = a + b \cdot (\text{Be}) + c \cdot (\text{Be})^2 + d \cdot (\text{Be})^3 \quad /5/$$

para la variación de la viscosidad con el grado Baumé de las disoluciones y los mostos.

CONSIDERACIONES FINALES

- 1ª.- Los valores de los volúmenes específicos de las disoluciones y mostos presentan una variación lineal con el grado Baumé para cada temperatura.
- 2ª.- Los valores de volúmenes específicos de las disoluciones y mostos para cada grado Baumé, frente a la temperatura se ajustan a una ecuación de segundo grado.
- 3ª.- Las disoluciones y mostos estudiados presentan comportamiento reológico termicamente normal.
- 4ª.- La disminución de temperatura y el aumento del grado Baumé hacen elevar considerablemente los valores de viscosidad tanto de las disoluciones como de los mostos.
- 5ª.- La viscosidad de las disoluciones y mostos, para cada temperatura, varían con el grado Baumé según la ecuación /5/.
- 6ª.- La viscosidad de las disoluciones y mostos, para cada grado Baumé, varía con la temperatura según la ecuación /4/.
- 7ª.- No existen diferencias significativas entre las disoluciones y mostos estudiados en relación a los valores de volumen específico y viscosidad.

BIBLIOGRAFIA

- (1). Fenómenos de Transporte. R.B. Bird; W.E. Stewart; E.N. Lightfoot. Ed. Reverte. Barcelona (1980).

T A B L A I
VALORES DE VOLUMEN ESPECIFICO Y VISCOSIDAD DE LAS DISOLUCIONES DE GLUCOSA Y FRUCTOSA

° Be	273K	278K	283K	288K	293K	298K	303K	308K	313K
37	0,7391 1444	0,7403 847	0,7416 522	0,7432 329	0,7447 217	0,7464 147	0,7481 105	0,7501 75,6	0,7523 57,0
36	0,7467 848	0,7478 492	0,7491 314	0,7505 209	0,7522 139	0,7540 98,8	0,7559 70,8	0,7580 53,3	0,7602 41,8
35	0,7536 483	0,7551 285	0,7565 200	0,7580 132	0,7598 90,5	0,7616 66,0	0,7635 49,1	0,7656 37,7	0,7676 30,6
34	0,7613 297	0,7625 188	0,7639 127	0,7655 87,6	0,7672 63,9	0,7688 45,7	0,7707 34,4	0,7724 27,6	0,7745 24,0
33	0,7686 205	0,7697 134	0,7711 90,0	0,7727 63,0	0,7745 45,6	0,7763 34,6	0,7781 26,9	0,7800 21,5	0,7820 17,9
32	0,7744 143	0,7756 94,3	0,7769 67,1	0,7785 48,7	0,7800 35,8	0,7817 27,2	0,7834 21,2	0,7852 16,5	0,7871 14,4
31	0,7825 106	0,7840 72,0	0,7858 51,1	0,7874 37,1	0,7889 28,0	0,7904 21,5	0,7923 17,3	0,7942 14,0	0,7965 12,0
30	0,7894 80,4	0,7906 56,3	0,7919 39,8	0,7935 29,7	0,7952 22,0	0,7969 17,3	0,7987 14,1	0,8006 11,5	0,8029 9,91
25	0,8238 23,6	0,8250 17,9	0,8263 14,2	0,8277 11,2	0,8292 8,97	0,8308 7,27	0,8325 6,05	0,8343 5,15	0,8361 4,41
19	0,8643 9,55	0,8655 7,48	0,8670 6,11	0,8685 5,07	0,8702 4,30	0,8719 3,59	0,8738 3,11	0,8757 2,72	0,8777 2,39
16	0,8852 6,70	0,8864 5,30	0,8876 4,47	0,8889 3,79	0,8902 3,14	0,8918 2,79	0,8937 2,39	0,8956 2,11	0,8977 1,82
10	0,9274 4,10	0,9288 3,50	0,9301 2,98	0,9317 2,60	0,9331 2,26	0,9346 1,96	0,9361 1,73	0,9378 1,54	0,9398 1,39
6	0,9547 3,26	0,9557 2,90	0,9567 2,39	0,9579 2,07	0,9590 1,81	0,9603 1,57	0,9617 1,40	0,9634 1,26	0,9653 1,14

TABLA II

VALORES DE VOLUMENES ESPECIFICOS Y VISCOSIDAD PARA LOS MOSTOS

°Bé	273K	278K	283K	288K	293K	298K	303K	308K	313K
37	0,7365 1303	0,7375 754	0,7387 465	0,7402 299	0,7416 203	0,7430 141	0,7445 98,9	0,7463 73,9	0,7482 59,3
36	0,7455 786	0,7467 476	0,7480 299	0,7480 194	0,7509 134	0,7524 98,0	0,7535 70,0	0,7558 52,8	0,7577 41,8
35	0,7533 492	0,7543 304	0,7556 204	0,7570 134	0,7585 93,1	0,7602 68,9	0,7618 50,2	0,7637 39,1	0,7657 30,9
34	0,7602 314	0,7613 199	0,7625 132	0,7639 90,0	0,7655 64,2	0,7672 48,1	0,7690 35,6	0,7709 27,8	0,7730 22,0
33	0,7683 208	0,7694 132	0,7706 91,2	0,7720 65,2	0,7736 46,7	0,7752 36,0	0,7771 27,8	0,7790 21,7	0,7811 17,4
32	0,7745 152	0,7756 97,8	0,7767 67,1	0,7780 47,4	0,7794 36,6	0,7809 28,5	0,7824 22,2	0,7840 17,6	0,7857 14,2
31	0,7809 101	0,7820 68,9	0,7832 49,4	0,7845 37,2	0,7859 28,0	0,7873 22,2	0,7888 17,9	0,7904 14,6	0,7921 11,8
30	0,7874 74,1	0,7883 51,0	0,7894 38,9	0,7905 28,8	0,7918 21,8	0,7931 17,4	0,7946 14,3	0,7962 11,7	0,7979 9,54
25	0,8231 23,8	0,8241 18,0	0,8251 14,0	0,8263 11,0	0,8276 8,86	0,8290 7,36	0,8305 6,15	0,8322 5,12	0,8339 4,40
19	0,8630 9,24	0,8640 7,37	0,8652 5,93	0,8664 4,84	0,8677 4,05	0,8691 3,45	0,8705 2,98	0,8722 2,60	0,8742 2,28
16	0,8853 6,68	0,8864 5,40	0,8875 4,42	0,8887 3,63	0,8901 3,10	0,8915 2,65	0,8932 2,32	0,8949 2,06	0,8968 1,83
10	0,9266 4,05	0,9279 3,43	0,9294 2,87	0,9312 2,54	0,9330 2,17	0,9349 1,90	0,9370 1,70	0,9391 1,50	0,9414 1,34
6	0,9538 3,14	0,9551 2,65	0,9565 2,25	0,9579 1,92	0,9594 1,70	0,9611 1,50	0,9630 1,35	0,9651 1,22	0,9675 1,09

T A B L A III

PARAMETROS CORRESPONDIENTES A LA REGRESION: $V_{\text{esp.}} = V_o + V_1 \cdot Be$

T (°K)	GLUCOSA-FRUCTOSA					MOSTOS				
	V_o	V_1	r	V_{oexp}		V_o	V_1	r	V_{oexp}	
273	0,996 \pm 0,002	-0,0069 \pm 1.10 ⁻⁴	0,9999	1,000		0,996 \pm 0,001	-0,0069 \pm 1.10 ⁻⁴	0,9999	1,000	
278	0,997 \pm 0,002	-0,0069 \pm 1.10 ⁻⁴	0,9999	1,000		0,997 \pm 0,002	-0,0070 \pm 1.10 ⁻⁴	0,9999	1,000	
283	0,999 \pm 0,002	-0,0070 \pm 1.10 ⁻⁴	0,9999	1,000		0,999 \pm 0,002	-0,0070 \pm 1.10 ⁻⁴	0,9999	1,000	
288	1,000 \pm 0,002	-0,0070 \pm 1.10 ⁻⁴	0,9999	1,001		1,000 \pm 0,002	-0,0070 \pm 1.10 ⁻⁴	0,9999	1,001	
293	1,001 \pm 0,002	-0,0070 \pm 1.10 ⁻⁴	0,9999	1,002		1,001 \pm 0,002	-0,0069 \pm 1.10 ⁻⁴	0,9999	1,002	
298	1,003 \pm 0,002	-0,0070 \pm 1.10 ⁻⁴	0,9999	1,003		1,003 \pm 0,002	-0,0070 \pm 1.10 ⁻⁴	0,9999	1,003	
303	1,004 \pm 0,002	-0,0069 \pm 1.10 ⁻⁴	0,9999	1,004		1,005 \pm 0,002	-0,0070 \pm 1.10 ⁻⁴	0,9998	1,004	
308	1,006 \pm 0,001	-0,0069 \pm 1.10 ⁻⁴	0,9999	1,006		1,007 \pm 0,003	-0,0070 \pm 1.10 ⁻⁴	0,9998	1,006	
313	1,009 \pm 0,003	-0,0070 \pm 1.10 ⁻⁴	0,9998	1,008		1,008 \pm 0,002	-0,0069 \pm 1.10 ⁻⁴	0,9999	1,008	

T A B L A IV

VOLUMENES ESPECIFICOS EXPERIMENTALES Y VOLUMENES ESPECIFICOS OBTENIDOS DE LA CORRELACION /2/ A 293°K CORRESPONDIENTES A LAS DISOLUCIONES Y MOSTOS ESTUDIADOS.

GRADO BAUME	GLUCOSA-FRUCTOSA		MOSTO	
	<u>V</u> <u>esp. exper.</u>	<u>V</u> <u>esp. correl.</u>	<u>V</u> <u>esp. exper.</u>	<u>V</u> <u>esp. correl.</u>
37	0,7447	0,7447	0,7416	0,7415
36	0,7522	0,7522	0,7509	0,7508
35	0,7598	0,7598	0,7585	0,7585
34	0,7672	0,7671	0,7655	0,7655
33	0,7745	0,7744	0,7736	0,7736
32	0,7808	0,7800	0,7794	0,7794
31	0,7889	0,7889	0,7859	0,7859
30	0,7952	0,7952	0,7918	0,7918
25	0,8292	0,8292	0,8276	0,8276
19	0,8702	0,8702	0,8677	0,8677
16	0,8902	0,8903	0,8901	0,8901
10	0,9331	0,9331	0,9330	0,9330
6	0,9590	0,9590	0,9594	0,9594

ESTUDIO DEL CONTENIDO EN LIPIDOS TOTALES, NEUTROS Y POLARES EN UVAS
"MACABEO" (VITIS VINIFERA) EN EL CURSO DE SU CICLO VEGETATIVO.

Castela Mogollón, P.M., Mesías Iglesias, J.L. y Maynar Mariño, J.I.
Departamento de Bioquímica. Facultad de Ciencias. Universidad de Extremadura.

RESUMEN

El presente trabajo recoge la presencia de los diferentes ácidos grasos en el jugo de uva de la variedad "Macabeo" en el curso de su ciclo vegetativo. Una vez extraídos los lípidos del jugo de uva, se han separado las fracciones lipídicas polares y neutras por cromatografía en columna de ácido silícico, realizándose el análisis de ácidos grasos por cromatografía de gases, previa hidrólisis y metilación de la materia lipídica.

Se encuentra que en general, el ácido linoleico es predominante en esta variedad y se estudian las relaciones entre las fracciones neutras y polares, siendo los ácidos grasos de la fracción neutra los que evolucionan de forma más significativa. Igualmente se estudia la relación existente entre ácidos grasos insaturados y saturados.

INTRODUCCION

Existen pocos trabajos sobre la composición lipídica de productos derivados de la vid. Los avances registrados en las técnicas analíticas, junto al destacado papel de los lípidos como precursores aromáticos de los productos vitivinícolas, han incidido en la aparición en los últimos diez años, de alguna bibliografía relacionada con el tema (1).

Los primeros resultados sobre materia grasa en vid (2) confirman en sarmientos de variedades de uvas "Aramon" y "Cariñena", contenidos de 1,23% a 1,25% y 1,06% a 1,08%, respectivamente.

Las modernas técnicas cromatográficas permiten precisar la composición de la cera cuticular de raíces y hojas (3), encontrando

diferencias destacadas en la presencia de ácido oleanólico.

Los estudios sobre lípidos en células de hojas (variedad "Cabernet-Sauvignon") (4), señalan que en los cloroplastos la cantidad de lípidos totales aumentan del 6% al 16% en el curso del ciclo vegetativo.

Los primeros resultados concernientes a ácidos grasos de los sarmientos, brotes, hojas y raíces de la variedad "Ugnin Blanc" han sido publicados (5, 6, 7, 8), llegándose a la conclusión de que en todos los órganos vegetativos de la vid existen dos ácidos grasos saturados, el palmítico y esteárico, y tres insaturados, como son el oleico, linoleico y linolénico.

Estudios realizados en uvas "Concord" (9), sobre su composición lipídica, determinaron que los hollejos contenían el 0,32% de lípidos, mientras que la pulpa contenía el 0,10%.

En general y en diferentes tipos de uvas (10), al analizar la composición de ácidos grasos se puede apreciar una concentración lipídica que oscila entre 0,15% y 0,24%.

Nuestro trabajo y dentro de los estudios que sobre la biosíntesis de aldehídos y alcoholes herbáceos a partir de precursores lipídicos estamos realizando, aporta los primeros resultados objetivos sobre la composición de ácidos grasos en las fracciones lipídicas neutra y polar así como su evolución en el curso del ciclo vegetativo de la variedad "Macabeo" (Vitis Vinifera).

MATERIAL Y METODO

MATERIAL BASE DEL TRABAJO

Se han estudiado las uvas blancas, variedad "Macabeo", de destacada incidencia en la zona de "Tierra de Barros" en la provincia de Badajoz. Las uvas recogidas fueron congeladas y mantenidas en frío (-10°C) hasta su análisis.

METODOS

Extracción y concentración de la materia lipídica. Las uvas se homogenizan con una papilla previamente preparada con Hyflo Super Cel, SiO_3H_2 y agua destilada, separándose en un filtro buchner la parte

acuosa que se descarta. El residuo resultante es homogeneizado con cloroformo-metanol (2/1), extrayéndose la fase orgánica y descartando la fase hidroalcohólica, repitiendo esta operación dos veces más, terminando con una homogeneización en cloroformo. Reunidas las fases orgánicas se concentra en rotavapor a 30°C, llevándose el extracto a una columna de ácido silícico para la separación de los lípidos en neutros y polares, eluyendo los lípidos neutros con cloroformo y los polares con metanol, ambos a un gradiente de salida de 0,5 ml/minuto.

Análisis por cromatografía de gases. Para el análisis cualitativo y cuantitativo de los ácidos grasos constituyentes de las fracciones lipídicas neutra y polar de las uvas, realizamos una hidrólisis con NaOH/MeOH 0,5 N y posterior metilación con el reactivo HCl/MeOH al 5%. Las condiciones cromatográficas fueron las siguientes: columna de acero inoxidable de 2 m de longitud y 1/8 pulgada de diámetro exterior, rellena de dietilenglicolsuccinato (DEGS) al 15% sobre chromosorb W-HDMS de 80-100 mesh, temperatura horno de 100°C a 180°C a razón de 3°C/min.

RESULTADOS Y DISCUSION

En la figura 1 representamos la evolución de ácidos grasos totales en las fracciones neutra y polar en uvas "Macabeo" durante el ciclo vegetativo, apreciándose un contenido mayoritario de lípidos neutros respecto a la fracción polar (77,97% de lípidos neutros frente a 22,03% de lípidos polares en la época de madurez), alcanzando sus valores máximos en la época del envero, fase vegetativa en la que se inicia el período de maduración de la uva.

En la evolución de lípidos en uva puede observarse dos fases diferentes: una fase inicial de biosíntesis desde el estado verde al envero, y otra fase degradativa hasta el estado de madurez, para terminar en concentraciones algo superiores de lípidos neutros (9% más que en la época verde). Sin embargo, los lípidos polares apenas alteran su concentración a lo largo del ciclo vegetativo (40mg/100 g uva, por término medio).

Los porcentajes de cada fracción en las distintas épocas del ciclo vegetativo se presentan en la tabla I. En el estado verde,

las cantidades de lípidos totales son mínimas (3,4% respecto al 100% del envero), predominando los lípidos polares sobre los neutros. Hasta llegar al envero, los lípidos neutros experimentan un gran aumento, siendo en esta época netamente superiores (92,59% con respecto a los lípidos polares que son el 7,41%) y en la madurez siguen siendo superiores aunque sufren un gran decrecimiento (77,97% respecto a los lípidos polares que son el 22,03%). En ambas fracciones, y durante todo el ciclo vegetativo de la uva "Macabeo", los ácidos grasos insaturados predominan con respecto a los saturados (por término medio un 10% de ácidos grasos saturados y un 90% de ácidos insaturados), lo que está de acuerdo con otros autores (10), que estudiando variedades Vitis Vinifera, encuentran que en la fracción polar predominan, también, los ácidos grasos insaturados tales como el ácido oleico, linoleico y linolénico.

La evolución de los lípidos totales junto a la acumulación de azúcares durante el ciclo vegetativo de la uva "Macabeo" se presenta en la figura 2. Desde el envero hasta la madurez se produce la máxima aportación glucídica en la uva, en este período la fotosíntesis decrece (la clorofila disminuye) y se llega a producir la concentración máxima de azúcares, coincidiendo con valores mínimos de lípidos totales (máximo de azúcares 200 g/litro de jugo uva, mínimo de lípidos, disminución en un 88%). Estos resultados coinciden con los obtenidos por otros autores (11, 12).

En la figura 3 se representa la evolución de cociente AGI/AGS en el ciclo vegetativo de la uva "Macabeo". La gráfica en forma de sierra para los lípidos neutros, expresa un aumento y disminución constante del cociente hasta la época del envero, a partir de aquí se empieza a atenuar hasta la madurez. El cociente en los lípidos polares presenta menos variaciones a través del ciclo, es más uniforme en su evolución, siempre disminuyendo.

En las figuras 4 y 5, se representa la evolución de los ácidos grasos mayoritarios ($C_{16:0}$ y $C_{18:2}$) en las fracciones polar y neutra, por las que observamos dos fases características, comunes en ambos ácidos: una primera etapa de aumento hasta la época del envero (75,6 mg/100 g y 12,6 mg/100 g para $C_{16:0}$; frente a 1311,6 mg/100 g y 104,3 mg/100 g para $C_{18:2}$, en las fracciones neutra y polar, respecti-

vamente), seguida de una fase degradativa en la que estos ácidos desaparecen con rapidez hasta estabilizarse en fechas próximas a la madurez.

El ácido palmítico destaca en el conjunto de ácidos grasos saturados en las uvas "Macabeo" (70,8% respecto del total de ácido grasos saturados en la época de madurez), confirmando los trabajos similares en otras variedades Vitis Vinifera (13 , 14). Las concentraciones encontradas de ácido linoleico en uvas "Macabeo" (45,1 mg/100 g, verde; 1415 mg/100 g, envero y 172,1 mg/100 g en la madurez) confirman la presencia prioritaria de este componente en el total de lípido en esta fruta (15, 14).

La evolución de los ácidos palmítico y linoleico en la fracción polar permite afirmar que, exceptuando pequeños aumentos de concentraciones en el envero (7 mg/100 g uvas, incremento del palmítico y 42 mg/100 g uvas, incremento del linoleico), ambos ácidos permanecen constantes con un comportamiento similar en el curso del ciclo vegetativo.

En las figuras 6 y 7 se presentan los diagramas de contribución (%) de cada ácido graso al contenido total de lípidos en las fracciones neutra y polar durante el curso vegetativo de la uva "Macabeo". Como podemos observar, en la figura 6, el ácido linoleico es mayoritario con gran diferencia de porcentaje respecto a los demás (80% en el envero), siguiendo en orden de importancia y para esta fracción el ácido oleico, que decrece a lo largo del ciclo (22% verde, 6% envero) recuperándose algo en la madurez (8%). La tendencia a acumularse del ácido linoleico en las pepitas va en detrimento del ácido oleico (14). El ácido palmítico aumenta desde la época verde hasta la madurez (3%, 5% y 6,5%). El ácido esteárico va aumentando su porcentaje hasta el envero, y posteriormente, hasta la madurez vuelve a disminuir (3%, 6% y 2,5%). En esta fracción el ácido linolénico es minoritario, presentando su contribución mayor (7%) en la época verde.

Los porcentajes en la fracción polar se reflejan en la figura 7. El ácido linoleico es también mayoritario con un porcentaje aproximadamente igual al de la fracción neutra. La contribución del ácido palmítico aumenta en esta fracción desde la época verde hasta la madurez (7% al 12% de incremento). El ácido oleico va aumentando

a lo largo del ciclo, aunque sus porcentajes son menores que en la fracción neutra (1,5% 4% y 5%). El ácido linolénico contribuye más en esta fracción, suele ser un ácido preponderante, correspondiendo su porcentaje más alto en la época verde (14%), bajando en el envero (5%) y aumentando algo en la madurez (7%). DATES (1970) afirma que la composición de ácidos grasos de lípidos polares en tejidos fotosintéticos de plantas se caracteriza por un mayor predominio del ácido α -linolénico (16). El ácido esteárico es minoritario, manteniendo a lo largo del ciclo su porcentaje (3%), en la fracción polar.

Las concentraciones de los diferentes ácidos grasos en mg/100 g uvas "Macabeo" en el ciclo vegetativo se exponen en la tabla en la que podemos apreciar para la fracción neutra un aumento generalizado de las concentraciones de cada ácido hasta el envero (biosíntesis) y desde éste a la madurez, y aunque no se produzca con la misma intensidad para todos, existe una degradación. En la fracción polar la concentración de ácidos grasos es mucho más pequeña y en general el nivel de concentraciones a lo largo del ciclo está más nivelado. En ambas fracciones lipídicas podemos afirmar una mayor presencia de los ácidos grasos insaturados: AGI/AGS = 8,4 en la época de madurez.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- FORSS, D.A. J. Agric. Food Chem., 17, 681-685, (1969).
- 2.- RAVAZ, L. y BONNET; A. Ann. Ec. Nat. Agric. Montpellier. N.S.I. 41 (1966).
- 3.- RADLER, F. y HORN, D.H.S. Aust. J. Chem., 18, 1059, (1965).
- 4.- BUTTROSE, M.S. y HALE, C.R. Plant., 101, 166-170, (1971).
- 5.- ATALAY, D., CHERRAD, M. y BOUARD, J. C.R. Acad. Sc., 277, 309-311 (1973).
- 6.- CHERRAD, M. y BOUARD, J. Conn. Vigne Vin., 3, 233-237, (1974).
- 7.- CHERRAD, M., ATALAY, D. y BOUARD, J. Conn. Vigne Vin., (1975).
- 8.- ALSAIDI, I., CHERRAD, M. y BOUARD, J. Conn. Vigne Vin., 4, 315-320, (1974).
- 9.- HIGGINS, P.A. y PENG, A.C.: Am. J. Enol. Vitic., 27, 32-35, (1976).

- 10.- GALLANDER, J.F. y PENG, A.C. Am. J. Enol. Vitic., 31(1), 24, (1980).
- 11.- DAVIS, D.D. y GIOVANELLI, J. Bioquímica Vegetal. Ed. Omega, 331-348, (1969).
- 12.- ATALAY, D. Thèse. Université de Bordeaux I (1975).
- 13.- BAUMAN, J.A. GALLANDER, J.F. y PENG, A.C. Am. J. Enol. Vitic., 28, 241-4, (1977).
- 14.- LAVAUD, J.J. y CHERRAD, M. Conn. Vigne Vin., 14 (3), 147-153, (1980).
- 15.- KINSELLA, J.E. Food Technology, 28 (5), 58-60, (1974).
- 16.- KATES, M. Avd. Lipid. Res., 8, Acad. Press. N.Y. (1970).

TABLA I

DISTRIBUCION (%)* DE CADA FRACCION LIPIDICA EN UVAS "MACABEO" DURANTE EL CICLO VEGETATIVO

VERDE			ENVERO			MADUREZ		
LIP. NEUTROS	LIP. POLARES		LIP. NEUTROS	LIP. POLARES		LIP. NEUTROS	LIP. POLARES	
20,51	79,48		92,59	7,41		77,97	22,03	
AGS	AGI	AGS AGI	AGS AGI	AGS AGI		AGS AGI	AGS AGI	
3,61	96,39	7,47 92,53	13,98 86,02	11,98 88,02		9,13 90,87	15,73 84,26	

* % respecto al total (neutros + polares) en el envero

TABLA II

ACIDOS GRASOS (mg/100 g UVAS) EN LAS FRACCIONES LIPIDICAS NEUTRA Y POLAR DE UVAS "MACABEO" EN EL CURSO DEL CICLO VEGETATIVO

<u>LIPIDOS NEUTROS</u>			
<u>ACIDOS</u>	<u>V</u>	<u>E</u>	<u>M</u>
Palmítico	0,23	75,60	10,70
Esteárico	0,20	80,50	4,40
Oleico	2,67	89,70	14,60
Linoleico	8,50	1311,60	137,00
Linolénico	0,72	8,70	3,70

<u>LIPIDOS POLARES</u>			
<u>ACIDOS</u>	<u>V</u>	<u>E</u>	<u>M</u>
Palmítico	2,20	12,60	6,20
Esteárico	1,36	3,00	1,30
Oleico	0,85	5,10	2,40
Linoleico	36,60	104,30	35,10
Linolénico	6,80	6,00	3,20

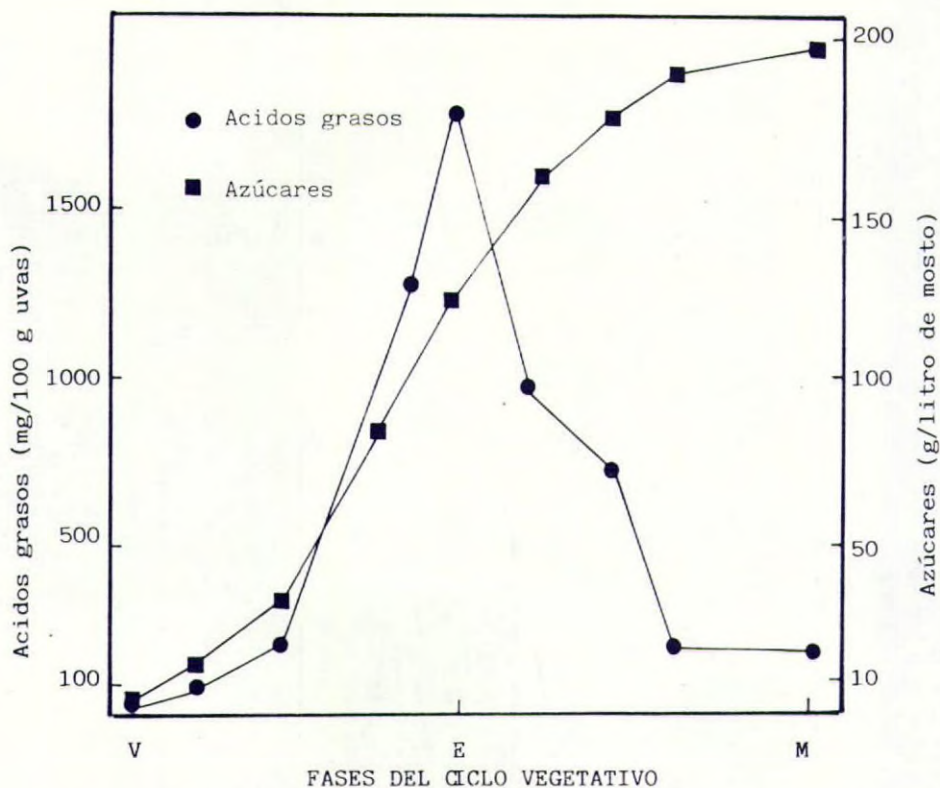


Figura 2.- Evolución de los lípidos totales y de azúcares durante el ciclo vegetativo de la uva "Macabeo".

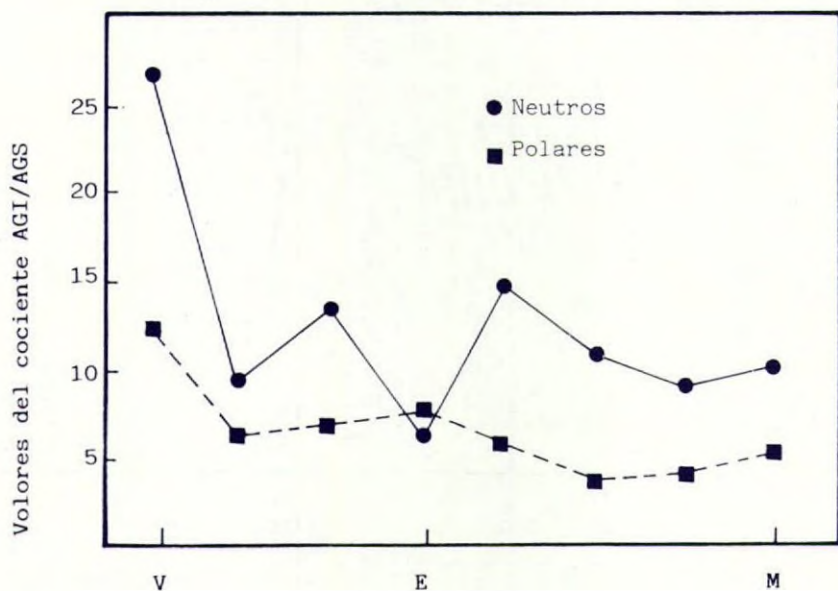


Figura 3.- Evolución del cociente AGI/AGS en el ciclo vegetativo de la uva "Macabeo".

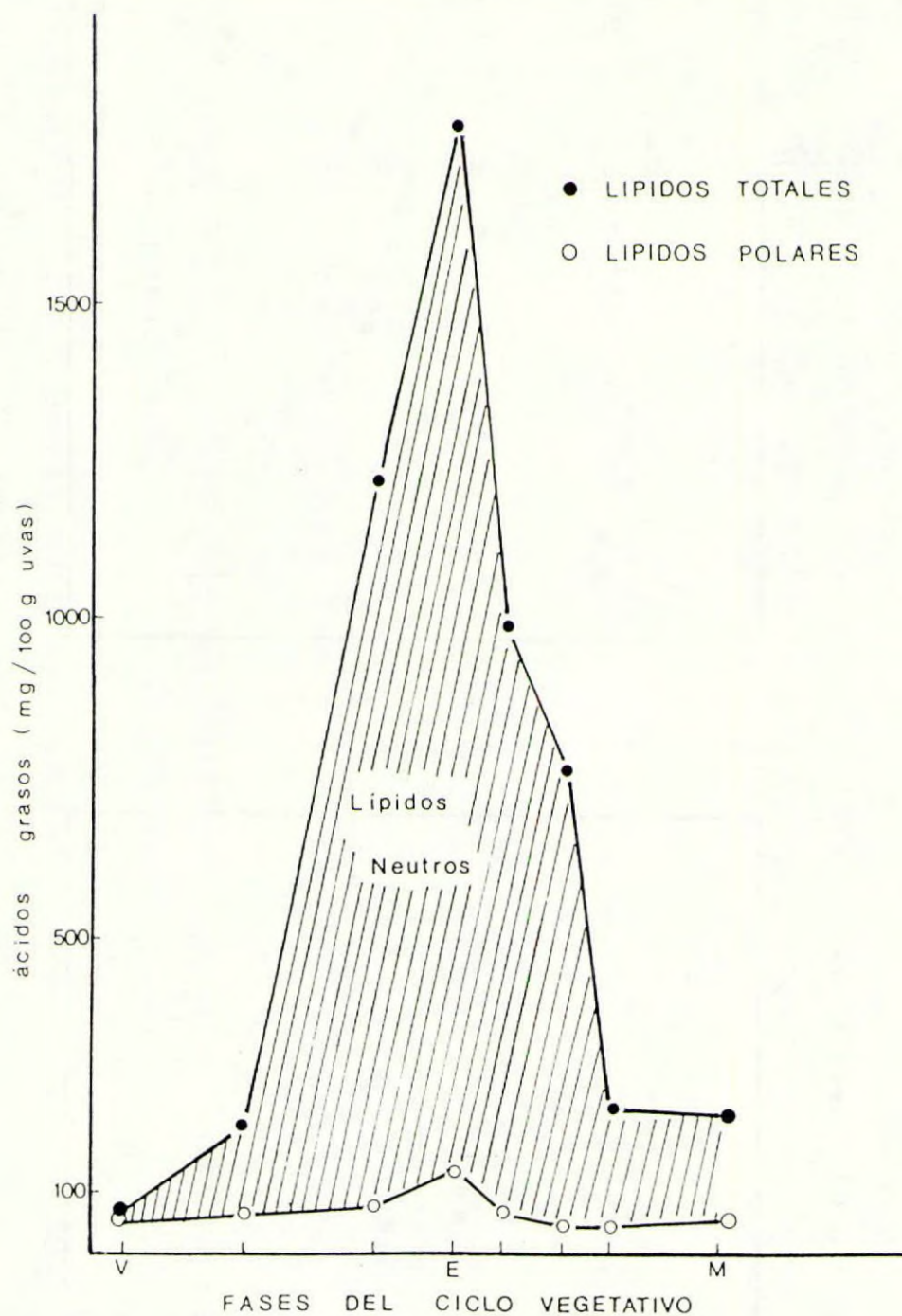
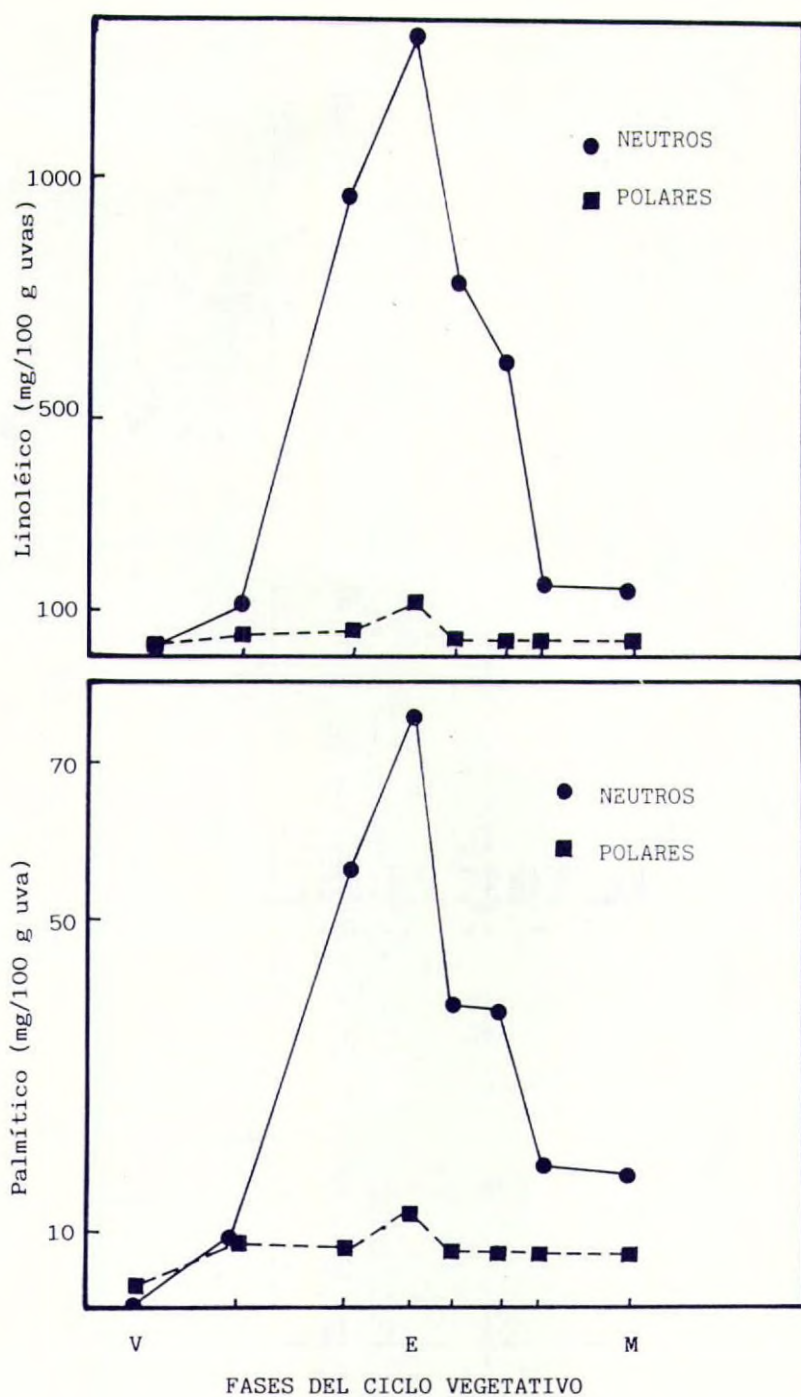


Fig. 1.- Evolución de ácidos grasos totales en las fracciones neutras y polar de uvas "Macabeo" durante el ciclo vegetativo.



Figuras 4 y 5.- Evolución de los ácidos palmítico y linoléico en las fracciones neutra y polar durante el ciclo vegetativo en uvas "Macabeo".

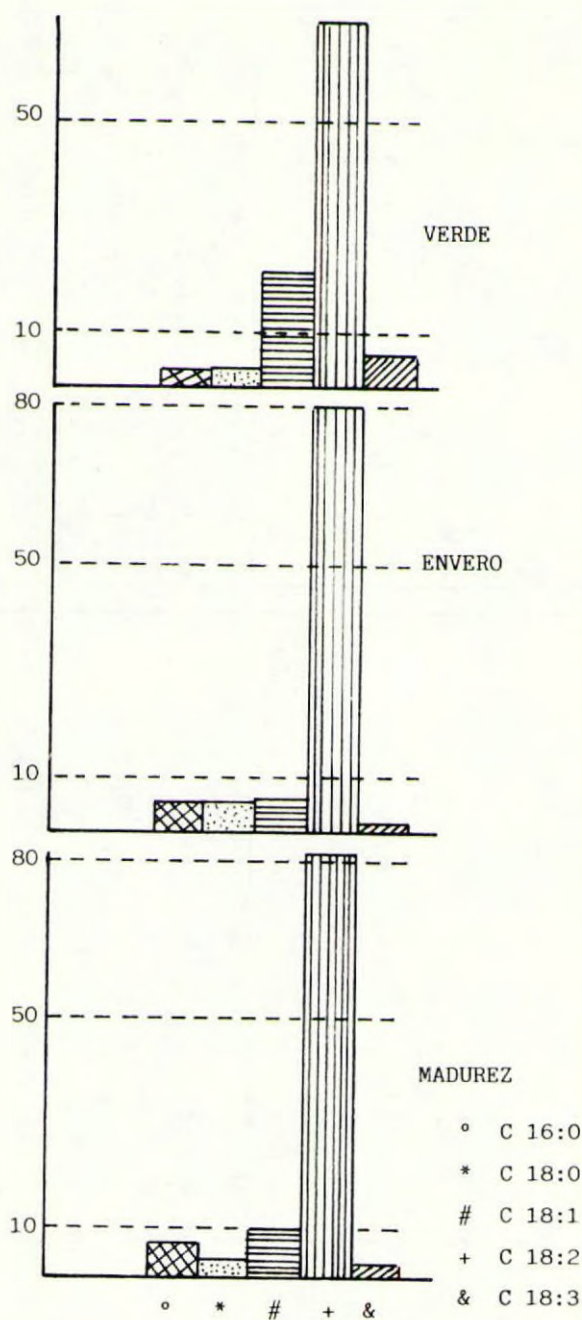


Fig. 6.- CONTRIBUCION (%) CON RESPECTO AL TOTAL DE LOS
ACIDOS GRASOS EN LA FRACCION NEUTRA DE UVAS
"MACABEO" DURANTE EL CICLO VEGETATIVO.

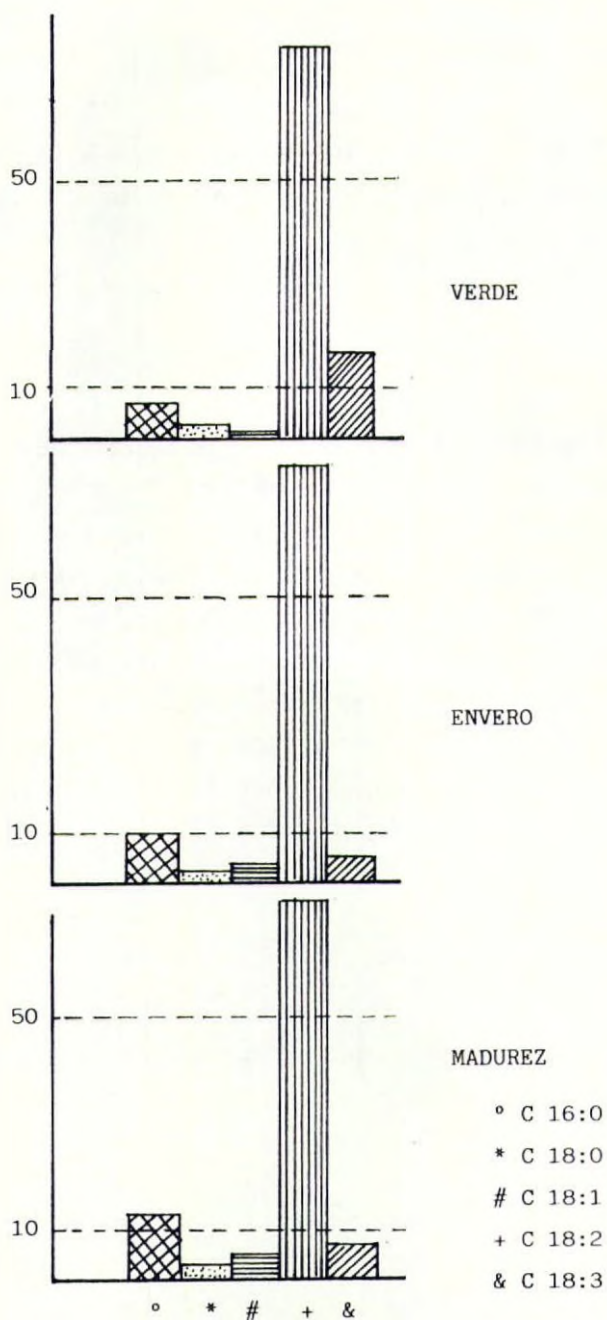


Fig. 7.- CONTRIBUCION (%) CON RESPECTO AL TOTAL DE LOS ACIDOS GRASOS EN LA FRACCION POLAR DE LAS UVAS "MACABEO" DURANTE EL CICLO VEGETATIVO.

EVOLUCION DE AMINOACIDOS EN EL CURSO DE LA MADURACION DE UVAS VITIS VINIFERA.

Miguel Gordillo, C., Maynar Mariño, J.I. y Mesías Iglesias, J.L.

Departamento de Bioquímica. Facultad de Ciencias. Universidad de Extremadura.

RESUMEN

La evolución del contenido en aminoácidos libres y aminoácidos totales de dos variedades de uvas Vitis Vinifera en el curso de su ciclo vegetativo ha sido estudiada. Todos los aminoácidos durante la maduración de uvas "Cayetana" y "Macabeo" experimentan un incremento en sus concentraciones. La prolina es el aminoácido predominante en las dos variedades estudiadas. La alanina y la arginina presentan igualmente valores elevados en las dos variedades.

La variedad "Macabeo" presenta un mayor contenido en aminoácidos totales que la variedad "Cayetana", llegando a ser el doble en el estado de madurez.

INTRODUCCION

El nitrógeno constituye para la vida, al igual que para todas las plantas el centro del metabolismo, jugando un papel fundamental en la multiplicación celular y en el desarrollo de sus órganos vegetativos.

La presencia de nitrógeno amínico en uvas durante su ciclo vegetativo aumenta de forma irregular, estando influenciada por diferentes factores como son sistemas de cultivo (1), condiciones climáticas (2) y variedad de uva (3).

La acumulación de los aminoácidos libres durante el ciclo vegetativo de la vida (4), se sugiere que puede ser debida al descenso de ácido málico, ya que se ha comprobado que la "deshidrogenasa málica" aumenta con la maduración del fruto. Las cantidades elevadas

de oxalacetato producido podrían ser transaminadas directamente para formar aminoácidos o descarboxilados por la enzima málica a pirúvico, el cual participaría en reacciones de transaminación (4).

La cromatografía ha contribuido de una forma destacada en el conocimiento de los distintos componentes en uvas, mostos y vinos (5, 6). El estudio de los aminoácidos por cromatografía de gases, hace necesario su transformación a derivados volátiles debido a sus características específicas de baja volatilidad, polaridad de los grupos -COOH y -NH_2 y su degradación compleja a elevadas temperaturas. Para nuestro trabajo hemos elegido los derivados trimetilsilados (3).

Los principales precursores de ésteres responsables del aroma "frutado" son fundamentalmente aminoácidos libres (7, 8, 9). Parece claro que la necesidad de estudiar los precursores (aminoácidos libres) en el fruto, al objeto de poder fundamentar la presencia de los ésteres ya encontrados en el vino y sobre lo que parece recaer la responsabilidad de las notas "frutado maduro".

MATERIAL Y METODO

UVAS

Se han estudiado las variedades de uvas blancas "Cayetana" y "Macabeo" destacadas de Tierra de Barros (Badajoz). Las muestras se recogieron de dos parcelas homogéneas situadas en la zona de Almedralejo-Villafranca de los Barros en época características del ciclo vegetativo de la vid, desde el envero (inicio de la maduración) hasta la madurez industrial (época de recolección en bodega). Se recogieron de 6 a 7 tomas por variedad.

La toma de muestra se realizó según la técnica de Peynaud (10) grano a grano, en diferente posición y al azar, para ser más representativa la muestra.

METODOS

Aislamiento y concentración de los aminoácidos libres. Para el aislamiento de los aminoácidos libres de las demás sustancias presentes en uvas se utilizó la resina catiónica Dowex 50 W x 8 (20-50 mesh) (Serva) según método puesto a punto por Feuillat y Bergeret (11).

Análisis de los aminoácidos libres por cromatografía de gases de sus

derivados silados. Se empleó un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard mod. 5830 A. En un matraz de 5 ml, con la muestra perfectamente desecada, se adiciona 1 ml de BSTFA (Sigma) y 1 ml de acetonitrilo (Merck), calentando a 150°C durante 3 horas (12). La muestra es guardada en un desecador hasta su análisis a las 24 horas. La columna empleada ha sido OV-11 35% fenilmetil silicona sobre suplecoport. La temperatura fué programada desde 110°C a 155°C, a razón de 2°C/min y desde 155°C a 25°C a razón de 4°C/min, manteniendo esta temperatura durante 10 min.

RESULTADOS Y DISCUSION

En las figura 1 a 6 presentamos las evoluciones de los diferentes aminoácidos en el curso de maduración de uvas "Cayetana" y "Macabeo" correspondientes al año 1.983.

A la vista de estas figuras y de una forma general, podemos concluir:

- Los aminoácidos durante la maduración de la uva experimentan un incremento en sus concentraciones. La cuantía de este incremento depende de cada aminoácido y de la variedad.

- Las fases de VERDE, ENVERO y MADUREZ aparecen bien caracterizadas por los fenómenos de acumulación (VERDE y MADUREZ) y proteosíntesis (ENVERO).

- La última muestra de la variedad "Macabeo" corresponde a uva sobremadura, en la que, la mayoría de los aminoácidos sufren una disminución en su concentración.

- La prolina es el aminoácido predominante en las dos variedades estudiadas. Su acumulación se realiza de una forma destacada en los períodos de madurez y sobremadurez, hecho señalado por numerosos autores (13, 14).

- α -alanina presenta valores significativamente altos en las dos variedades, acumulación que puede ser justificada por el hecho de que la α -alanina no juega un papel importante en la formación de otros aminoácidos, ni por conversión directa, ni por transaminación, sino que sirve como reserva de piruvato y amoniaco, más que como un intermediario directo en la síntesis de otros aminoácidos (14).

- La arginina también presenta valores elevados en las dos variedades, corroborando el ser la principal forma de reserva de nitrógeno en la vid. Estas concentraciones importantes de prolina y arginina, en el fruto, proceden de las raíces. La raíz juega el papel de centro de reservas glucídicas y posterior fuente de nitrógeno amínico. Es significativo el descenso de la arginina en período de sobrema-durez, caso de la variedad "Macabeo", hecho confirmado en otras varie-dades de uvas (15).

En la tabla I representamos el porcentaje de contribución de los aminoácidos alanina, arginina, glutámico y prolina, respecto al nitrógeno amínico total en las tres etapas del ciclo vegetativo de la vid y para las variedades "Macabeo" y "Cayetana".

Por la tabla observamos lo siguiente:

- La prolina en la uva "Cayetana" contribuye más al conte-nido de nitrógeno amínico total que en la variedad "Macabeo". Esta contribución es mayoritaria durante el ENVERO. Mientras que la alani-na, arginina y glutámico contribuyen más en la uva "Macabeo".

En la figura 7 representamos la evolución del contenido amínico total a lo largo de la maduración para las variedades "Cayeta-na" y "Macabeo". Por ella podemos observar que la variedad "Macabeo" es más rica en aminoácidos que la "Cayetana", en una proporción de casi el doble en el estado de madurez.



TABLA 1
CONTRIBUCION (%) DE LOS AMINOACIDOS (ALA, ARG, GLU Y PRO) EN EL CONTENIDO TOTAL DE AMINOACIDOS LIBRES EN UVAS, SEGUN CICLO VEGETATIVO

<u>AMINOACIDO</u>	<u>VARIEDAD MACABEO</u>			<u>VARIEDAD CAYETANA</u>		
	<u>Verde</u>	<u>Envero</u>	<u>Madurez</u>	<u>Verde</u>	<u>Envero</u>	<u>Madurez</u>
ALA	12.26	13.36	5.38	8.70	8.18	9.69
ARG	4.32	11.56	18.67	2.51	4.81	6.34
GLU	6.17	12.73	13.19	6.03	9.29	9.29
PRO	25.16	30.98	29.70	30.88	41.93	34.56

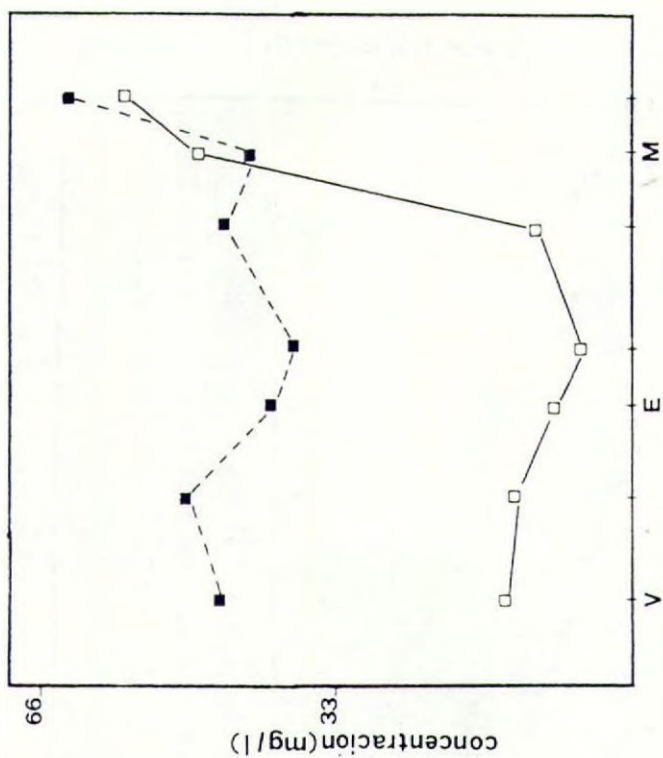
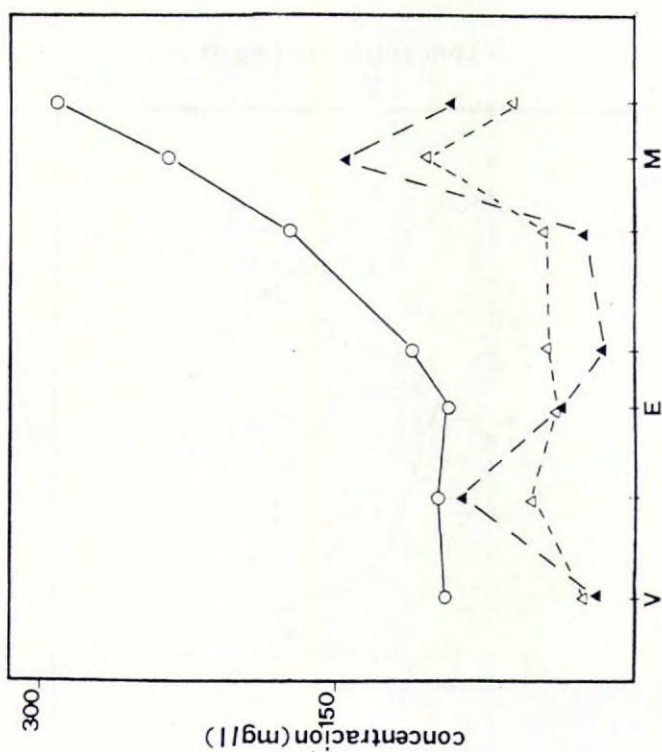


Fig. 1.- Evolución de la glicina (□—□), alanina (■--■), prolina (O—O), arginina (▲--▲) y glutámico (Δ--Δ) en el curso de maduración de uvas, durante el año 1.983. Variedad "Macabeo".

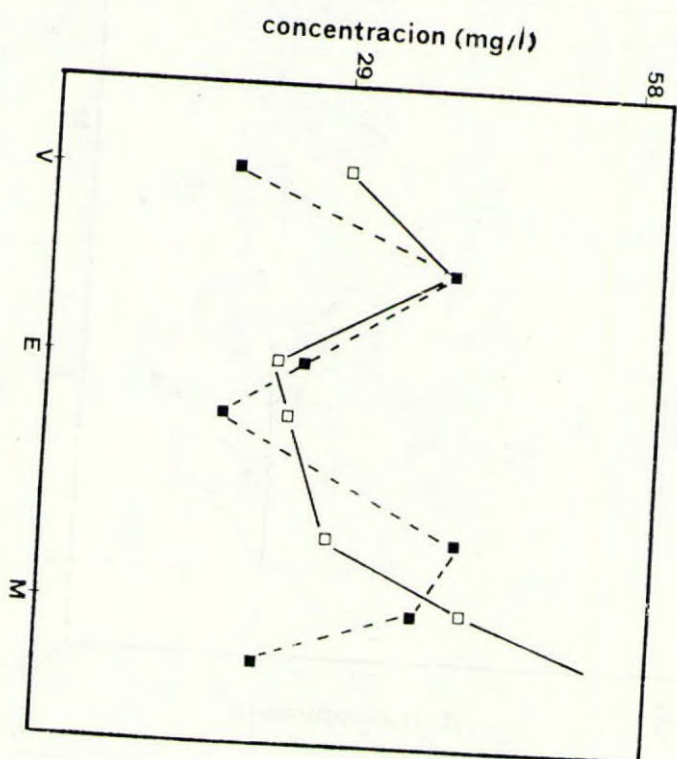
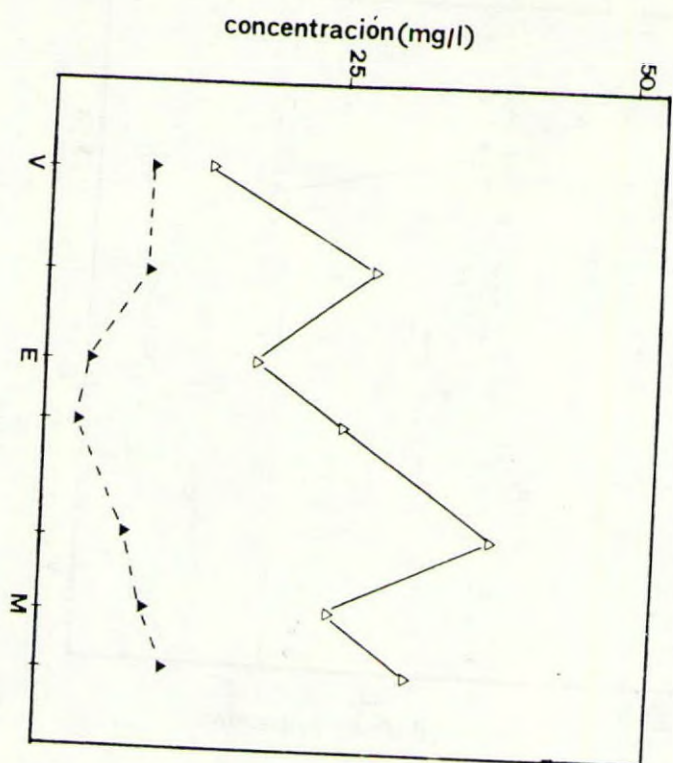


Fig. 2 .- Evolución de la treonina (Δ—Δ), isoleucina (Δ—Δ), metionina (□—□) y cisteína (■—■) en el curso de maduración de uvas durante el año 1.983. Variedad "Macabeo".

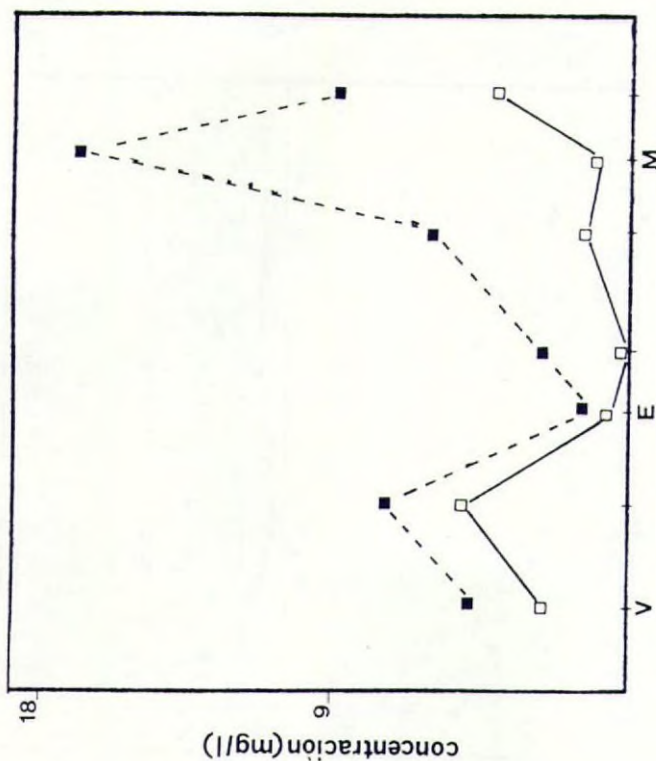
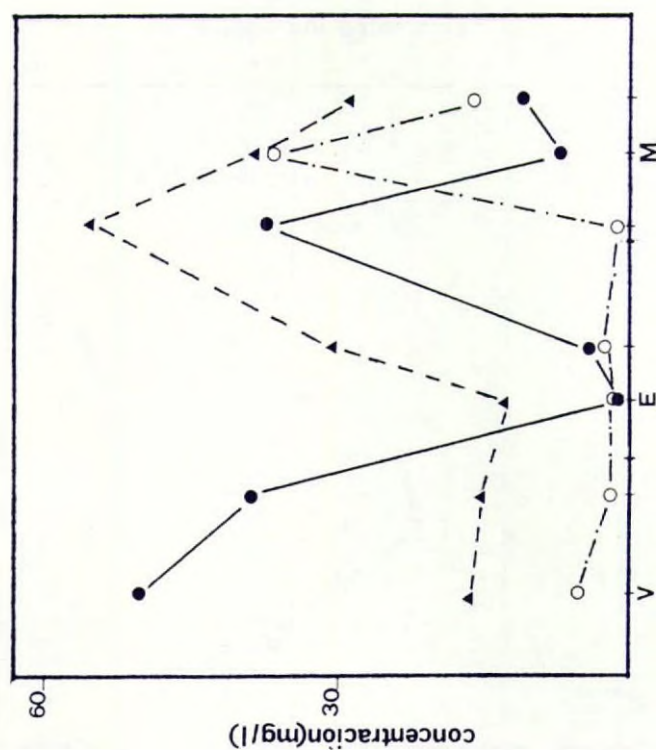


Fig. 3.- Evolución de la fenilalanina (●—●), lisina (▲---▲), histidina (○---○), valina (□—□) y leucina (■---■) en el curso de maduración de uvas durante el año 1.983. Variedad "Macabeo".

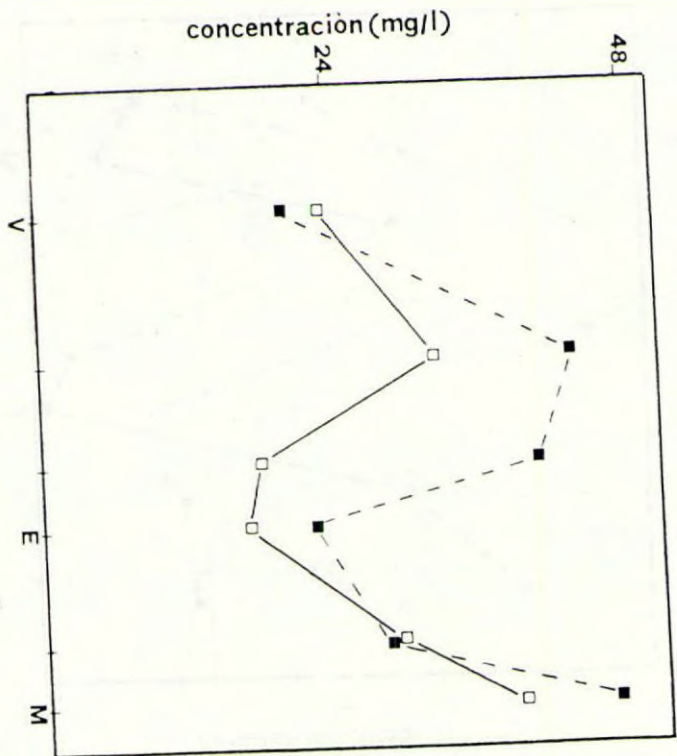
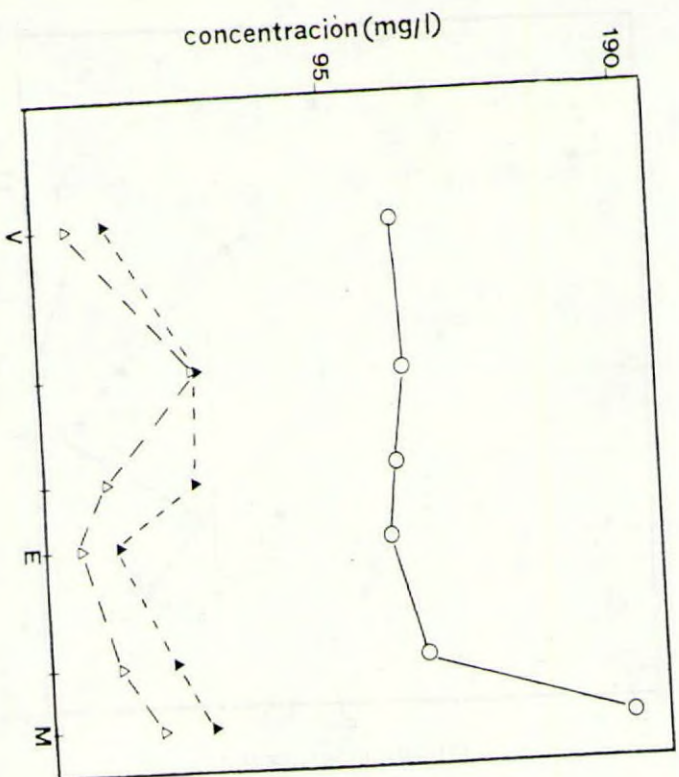


Fig. 4 .- Evolución de la metionina (\square — \square), cisteína (\blacksquare — \blacksquare), prolina (\circ — \circ), arginina (\triangle — \triangle) y glutámico (\blacktriangle — \blacktriangle) en el curso de maduración de uvas, durante el año 1.983. Variedad "Cayetana".

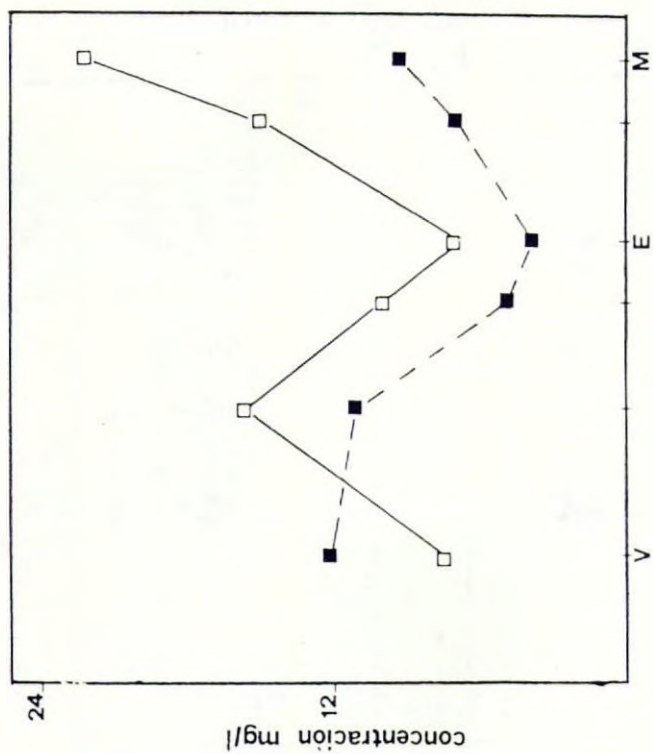
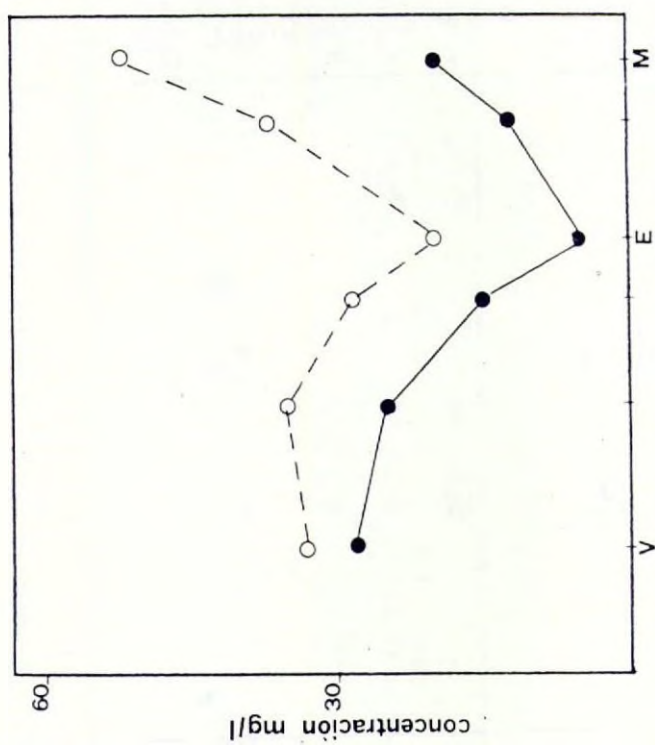


Fig. 5 .- Evolución de la glicina (O-O-O), alanina (●-●-●) e isoleucina (■-■-■) en el curso de maduración de uvas, durante el año 1.983. Variedad "Cayetana".

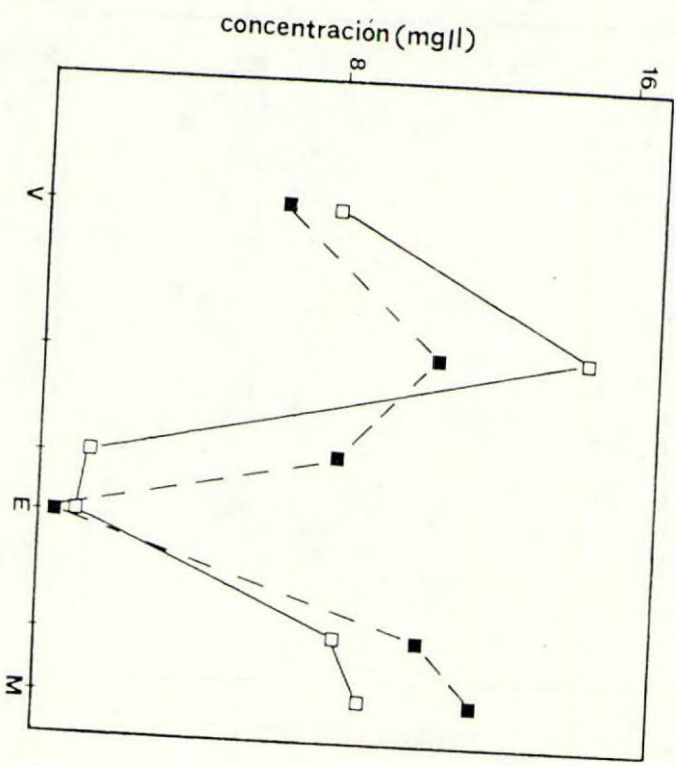
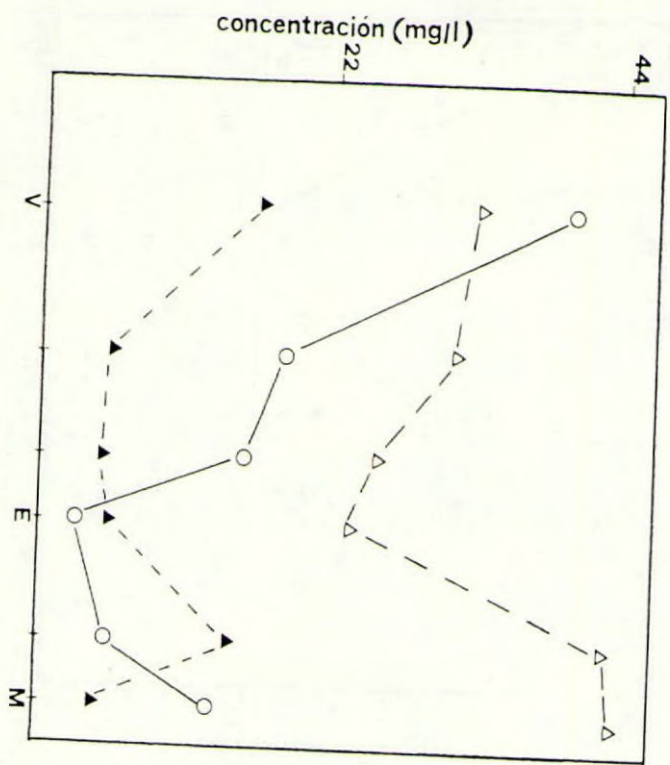


Fig. 6.- Evolución de la fenilalanina (O—O), histidina (Δ—Δ), lisina (Δ—Δ), valina (□—□) y leucina (■—■) en el curso de maduración de uvas, durante el año 1.983. Variedad "Cayetana".

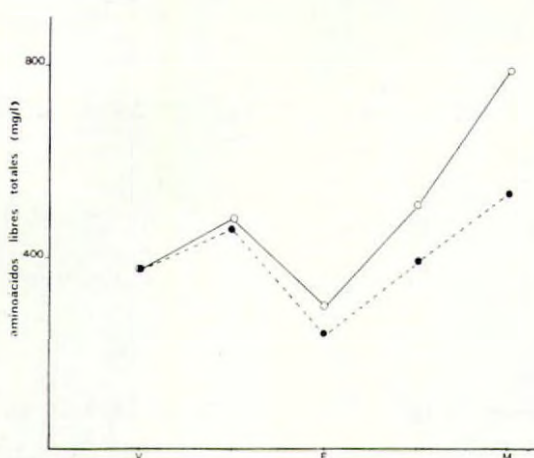


Fig. 7 .- Evolución de aminoácidos libres en el curso del ciclo vegetativo de las uvas "Macabeo" (O—O) y "Cayetana" (●—●).

BIBLIOGRAFIA

- 1.- CORDONNIER, R. Ann. Tech. Agric., 17, 189, (1968).
- 2.- FEUILLAT, M. Tesis Doctoral. Univ. de Dijon. Francia (1974).
- 3.- ZAMORA, R. Tesina de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Badajoz. (1982).
- 4.- HAWKER, J.S. Phytochemistry, 8, 19-23, (1969).
- 5.- DUBERNET, M.O. Thèse présentée a L'Université de Bordeaux II. 4. Juillet. (1974).
- 6.- HENAO, F. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias. Badajoz. (1983).
- 7.- TRESSEL, R. and DRAWERT, F. J. Agr. Food Chem., 21, 560, (1973).
- 8.- DRAWERT, F. Formation des arômes a différents stades de l'évolution du fruit. Enzyme intervenant dans cette formation. C.N.R.S. n° 238. Edition du C.N.R.S. Paris, pág. 309, (1975).
- 9.- GILLIVER, P.J. and NURTEN, H.E. J. Sci. Fd. Agr., 27, 152, (1976).
- 10.- PEYNAUD, E. Soc. Sci. Phys. Nat. Mai, 1-8, (1938).
- 11.- FEUILLAT, M. y BERGERET, J. C.R. Acad. Sc., 264, 13, Serie D, (1967).
- 12.- OUGH, et al. Am. J. Enol. Vitic., 30(4), 306-311, (1979).
- 13.- NASSAR, A.R. y KIEWER, W.M. American Society for horticultural science, 89, 281-294, (1966).
- 14.- KLUBA, R.M. Am. J. Enol. Vitic., 29 (2), (1978).
- 15.- KIEWER, W.M. Am. J. Enol. Vitic., 19, 166-174, (1968).

COMPUESTOS NO VOLATILES EN VINOS DE JEREZ: POLIALCOHOLES; AZUCARES Y COMPUESTOS FENOLICOS.

Estrella, I.; Olano, A. y Hernández, T.

Instituto de fermentaciones Industriales. C.S.I.C. Madrid.

INTRODUCCION

Los compuestos fenólicos, además de ser característicos de la variedad de uva, son aportados por la madera cuando se somete el vino a envejecimiento y por otra parte pueden ser asimilados o sintetizados por efecto de las levaduras de velo en el proceso de crianza con levadura de flor.

Entre los múltiples compuestos no volátiles presentes en los vinos, los polialcoholes tales como eritritol, manitol, arabitól, xilitol, sorbitol e inositol han sido objeto de escaso interés, existiendo en la bibliografía insuficientes datos sobre su contenido y significado de su presencia en vinos.

Recientemente (1), en un estudio sobre la evolución de los polialcoholes y compuestos fenólicos en dos sistemas de soleras, una de fino y otra de oloroso, observamos un mayor aumento del contenido en ácido en el caso de los finos así como pequeñas diferencias en el contenido de aldehídos y alcoholes para ambos sistemas de solera. Por lo que respecta a los polialcoholes no se observó influencia del efecto de la crianza en el contenido de dichos compuestos.

Con objeto de profundizar en el estudio de la evolución de los compuestos mencionados durante la crianza, en el presente trabajo hemos estudiado las variaciones existentes en polifenoles no flavonoides, polialcoholes y azúcares en ocho sistemas de soleras (fino, amontillado y oloroso) así como los cambios originados durante el proceso de envejecimiento en el sistema de criaderas.

MATERIALES Y METODOS

Las ocho escalas de solera estudiadas (dos de amontillado, tres de fino y tres de oloroso) fueron suministradas por distintas bodegas de Jerez.

Análisis de inositol y trehalosa

Un mililitro de vino al que se le ha añadido -fenil glucósido como patrón interno se evapora a sequedad en rotavapor a 60°C. El residuo se disuelve en 0,1 ml de dimetilsulfoxido y se trata con 0,15 ml de trimetil-silil imidazol manteniéndose a 60°C durante 30 minutos. La mezcla de reacción se enfría y se le añade 0,1 ml de hexano y 0,3 ml de agua. Después de agitar, se toma la fase de hexano para su posterior análisis en cromatografía de gases (GLC).

El análisis de la muestra se llevó a cabo en un cromatógrafo de gases SIGMA 3B (Perkin Elmer) provisto de columna de 3 m x 3 mm de acero inoxidable rellena con 3% de OV-17 sobre chromosorb W-HP 80-100 mesh. La temperatura del horno fue 190°C durante 15 min y posterior calentamiento a 39°C/min hasta 240°C, manteniéndose a dicha temperatura durante 20 minutos.

Análisis de polialcoholes, glucosa y fructosa

A 1 ml de vino se le añade 0,3 ml de una solución de perseitol (1 mg/ml) se evapora a sequedad en rotavapor a 60°C y al residuo obtenido se le añade 1 ml de anhídrido acético y 3 gotas de piridina anhidra. Se mantiene una hora a 100°C y posteriormente se concentra en rotavapor a sequedad. El residuo se disuelve en 0,4 ml de cloruro de metileno y se inyectan 0,6 µl en el cromatógrafo de gases.

El análisis de la muestra se realizó utilizando una columna capilar de sílice fundida de 25 m con OV-101, la temperatura del horno fue 21°C durante 25 min. y a continuación se calentó hasta 240°C a una velocidad de 39°C y se mantuvo 15 min. a la temperatura final.

Análisis de compuestos fenólicos no flavonoideos

Cien mililitros de vino se extraen con 10 ml de eter etílico tres veces, se reúnen los 30 ml; se deseca con acetato sódico, se concentra a sequedad en rotavapor y se recoge con 1 ml. de etanol/agua (1:1 v/v). De este extracto se inyecta en el cromatógrafo 5 µl.

Se ha usado un cromatógrafo Waters, Modelo 6.000 A, dos bombas de alta presión; programador de disolvente mod. 660; inyector U6 K; detector U.V. mod. 440; módulo de compresión radial RCM 100, con columna Radial-Pak C18 de 5 u. Como eluyentes se usa mezcla de metanol, acético y agua. Disolvente A: ácido acético en agua al 2%; disolvente B: ácido acético/metanol/agua 2:30:68. Las condiciones de operación son: curva

5; 25 min.; de 0,0 a 100% de B; flujo 1,7 ml/min. Las longitudes de onda son 280 y 340 nm.

Análisis de azúcares reductores

La determinación de azúcares reductores se ha realizado haciendo reaccionar 2 ml. de vino con 10 ml de solución de SO_4Cu (41,92 g en 1 litro de agua adicionada de 10 ml de SO_4H_2 1N) y 5 ml de una solución alcalina y de sal de Signette (250 g de tartrato de sodio y potasio y 80 g de NaOH en 1 litro de agua); llevada a ebullición dos minutos.

Por otro lado se hace la misma mezcla sustituyendo el vino por agua destilada.

Se añade sucesivamente y agitando en las dos mezclas 10 ml de solución de IK (300 g de IK 100 ml de NaOH 1 N en 1 litro de agua), 10 ml de SO_4H_2 al 16% y 10 ml de indicador de almidón.

Valorar con tiosulfato sódico (13,77 g de $\text{S}_2\text{O}_3\text{Na}_2$ más 50 ml de NaOH 1N en 1 litro de agua).

La diferencia en mililitros de las dos soluciones representa directamente el contenido en azúcares reductores en g/l.

RESULTADOS Y DISCUSION

Las figuras 1 y 2 muestran los cromatogramas correspondientes a los análisis de los derivados acetilados y los trimetilsililderivados de un vino. En las Tablas I, II y III se recogen los valores obtenidos del contenido en eritritol, xilitol, arabitól, fructosa, glucosa inositol, manitol, sorbitol y trehalosa en los distintos sistemas de solera estudiados. Como puede observarse los polialcoholes en general no experimentan una variación constante, bien de aumento o disminución a lo largo del proceso de crianza. Por el contrario, en la mayor parte de los casos se observa un descenso ó aumento inicial para variar a continuación en sentido opuesto. Ello parece indicar que la posible variación que experimentan dichos compuestos durante el proceso, es menor que las diferencias existentes en composición de las diversas añadas empleadas en el sistema.

Los contenidos en eritritol, xilitol y arabitól son similares para los tres tipos de vinos de Jerez, mientras que el inositol, sorbitol y manitol son más abundantes en los olorosos que en los otros tipos de vinos.

Por lo que respecta a la trehalosa, está ausente prácticamente en los finos y se presenta en cantidades variables en olorosos y amontillados. En aquellas escalas en las que aparece un valor alto en trehalosa coincide con un incremento en inositol, manitol y sorbitol. La presencia de trehalosa es debida a la podredumbre de la uva, la cual a su vez origina un aumento en los mencionados polialcoholes.

En el sistema F, en el que no se apreció el contenido en trehalosa, tampoco pudo observarse la presencia de manitol. Para algunos autores, el manitol es siempre producto de la reducción de la fructosa originada por contaminación bacteriana (2,3), y es posible que en dicho sistema F, libre de dicha contaminación no se formase manitol; en cambio en los otros sistemas de vino fino en los que tampoco se apreció el contenido en trehalosa si que se detectó manitol en cantidades considerables lo que parece indicar que la formación de trehalosa y manitol no es necesariamente producida por el mismo tipo de contaminación microbiana.

Por lo que respecta al sorbitol, en el sistema F, no se observaron cantidades apreciables del mismo excepto en la 3ª criadera lo que indica que su origen podría ser similar al expuesto para el manitol.

En los vinos finos, el contenido en azúcares reductores es muy bajo, siendo mayor el correspondiente a fructosa que el de glucosa. En los olorosos hay un mayor contenido en azúcares reductores que aumentan progresivamente a lo largo del sistema.

En uno de los dos sistemas de amontillado el contenido en azúcares reductores es similar a lo largo de la crianza mientras que en el otro sistema se observa un aumento similar al de los vinos olorosos.

La Tabla IV muestra el contenido en reductores totales de las distintas criaderas. Los valores obtenidos son superiores a los determinados por cromatografía de gases para el conjunto glucosa y fructosa debido a la presencia de otros compuestos reductores en el vino. No obstante el aumento en reductores coincide con el aumento en glucosa y fructosa.

La identificación de los compuestos fenólicos no flavonoides se ha realizado por medida de los tiempos de retención de cada pico respecto al ácido vainillínico, tomando como referencia estos mismos datos en sustancias patrones. Otro dato muy importante para la

identificación de estos compuestos es la relación que las respuestas de algunos de ellos a 280 y 340 nm.

Los compuestos fenólicos estudiados han sido: los ácidos gálico, protocatequico, gentísico, p-hidroxibenzoico, vainillínico, caféico, siríngico, p-cumárico y ferúlico; los aldehídos 3,4 dihidroxibenzoico, p-hidroxibenzoico, p-vainillina y siringaldehído, las cumarinas esculetina y escopoletina, y el hidroximetilfurfural.

Los cromatogramas de las figuras 3, 4 y 5, son los correspondientes a los tres tipos de vinos de Jerez estudiados mediante cromatografía líquida.

Estos cromatogramas son en los tres casos los correspondientes a la solera. Como ya se ha indicado anteriormente en este trabajo comparamos los tres tipos de vino y su variación con la crianza. En las figuras 6 a 20, se representan las variaciones de los compuestos estudiados en cada tipo de vino, en las distintas etapas de la crianza. En estas gráficas se representan en abscisas las cuatro fases de la crianza (c): solera (s), primera criadera (1ª), segunda criadera (2ª) y tercera criadera (3ª) y en ordenadas la altura de los picos en centímetros (h). Los valores que se representan se han obtenido tomando en cada caso la media de los valores de las muestras correspondientes a las distintas bodegas estudiadas.

Si se observa en las figuras 6, 7, 8, 9 y 10, el comportamiento de los ácidos benzoicos, gálico, protocatéquico, p-hidroxibenzoico, vainillínico y siríngico vemos que tienen un comportamiento parecido, excepto el gálico. El contenido más alto lo tienen los amontillados y los finos aparecen como más pobres en este tipo de compuestos; en general se observa un aumento del contenido de estos ácidos a lo largo de la crianza que es más acusado en amontillados.

El ácido gálico, sin embargo parece disminuir en amontillados y finos, siendo en este caso en los olorosos en los que parecen no varían mucho con la crianza.

El comportamiento de los ácidos cinámico, caféico, p-cumárico, y ferulico (figuras 11, 12 y 13) es diferente al observado por los ácidos benzoicos. Como se aprecia en las gráficas el contenido de estos ácidos en finos es muy pequeño. La mayor variación se observa en el ácido p-cumárico en el que se ve la gran diferencia que existe entre los tres tipos de vino.

En general estos ácidos no varían con la crianza,excepto en el caso del ácido p-cumárico,que aumenta netamente en los amontillados.

Respecto a los aldehidos su comportamiento es algo diferente al de los ácidos (figuras 14,15,16 y 17),y como se puede ver en las gráficas hay además que diferenciar el aldehido 3,4 dihidroxibenzoico.

Teniendo en cuenta los tres aldehidos,siríngico,p-vainillínico y p-hidroxibenzoico,vemos como el contenido más alto lo tienen los olorosos;en los finos están en pequeña cantidad y no parecen variar durante la crianza.La mayor variación con la crianza se observa en los amontillados.

El 3,4 dihidroxibenzaldehido aumenta netamente con la crianza y podemos ver como en este caso los finos tienen un contenido más similar al de los otros tipos de vino.

Las cumarinas no parecen tener una variación apreciable ni con el tipo de vino ni con las etapas de la crianza (figuras 18 y 19).

El hidroximetilfurfural aparece solamente en amontillados y olorosos,en finos se encuentra en forma de trazas.Como se puede ver en la gráfica (figura 20),este compuesto sufre un considerable aumento durante la crianza .En uno de los sistemas de amontillados correspondiente a una bodega se ha observado un comportamiento diferente,ya que se ha encontrado un bajo contenido en hidroximetilfurfural y poca variación con la crianza.Esto está de acuerdo con el contenido en glucosa y fructosa para estos mismos vinos,que se ha visto anteriormente.

El ácido gentésico solo se ha encontrado en vinos finos y no se aprecian diferencias durante la crianza.

En los cromatogramas se ha observado la existencia de un pico solo en amontillados y olorosos que aunque no está totalmente identificado parece corresponder al conifenilaldehido.

De todo lo visto anteriormente se puede deducir que los compuestos fenólicos individuales estudiados pueden servir para diferenciar los tres tipos de vino:fino,amontillado y oloroso.

Se observa en la mayor parte de los compuestos,un comportamiento muy diferente para los finos,lo que puede deberse al tipo de crianza que sufren,bien diferenciada de la de los otros vinos.

El contenido más alto en ácidos benzoicos corresponde a los amontillados;pero todos los demás compuestos fenólicos están en con-

centración más alta en olorosos.

Los olorosos por tanto, tienen mayor contenido en p-vainillina, siringaldehído y p-hidroxibenzaldehído, lo que confirma lo expuesto en un trabajo anterior (1). De esto se puede deducir que estos aldehídos pueden ser los responsables de las características organolépticas diferenciales de estos tres tipos de vino de Jerez.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Estrella, I.; Hernández, T.; Olano, A. y Díez, C. Proceeding of 2nd European Conference on Food Chemistry. Roma (1983).
- 2.- Amerine, M.A.; Berg, H.W. and Cruess, W.V. "Chemistry of Fermentation and Composition of Wines". Technology of Wine Making. p.177-244. Avi. Pub. Co. Inc. Westport, CN (1972).
- 3.- Valentinis, G. y Mattioni, R. Ind. Aument. 39, 73-76. (1968).

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen a las Bodegas Terry, Pedro Domecq y Vergara las muestras suministradas y a M.J. Rodríguez e I. Izquierdo su asistencia técnica.

T A B L A I

CONTENIDO EN POLIALCOHOLES Y TREHALOSA EN VINOS OLOROSOS (mg/l)

<u>Sistema</u>	<u>Criadera</u>	<u>Eritritol</u>	<u>Arabitol</u>	<u>Xilitol</u>	<u>Fructosa</u>	<u>Glucosa</u>	<u>Inositol</u>	<u>Manitol</u>	<u>Sorbitol</u>	<u>Trehalosa</u>
A	3ª	157,6	24,3	53,1	436,4	158,6	319,6	488,3	94,1	23,9
	2ª	167,8	22,3	53,4	1086	1277	301,2	730,6	114,5	12,0
	1ª	150,3	26,0	53,1	1329	1935	349,9	488,6	89,9	24,1
	Solera	174,6	42,0	85,0	2883	3783	464,9	715,6	116,9	31,3
B	2ª	186,5	21,7	53,2	761,3	761,3	132,1	172,6	71,7	10,9
	1ª	191,8	28,3	79,5	2034	3166	480,9	237,2	74,3	49,9
	Solera	324,8	61,4	149,3	3071	3715	854,2	347,8	134,4	64,8
C	3ª	150,6	24,7	45,8	412,3	359,1	418,2	55,6	42,8	53,3
	2ª	197,1	28,2	53,2	577,9	698,4	463,1	64,8	46,9	36,0
	1ª	109,5	24,2	64,3	626,9	831,7	534,4	85,2	61,6	28,6
	Solera	236,1	30,9	75,9	1317	1651	541,1	93,7	69,5	36,1

T A B L A II

CONTENIDO EN POLIALCOHOLES Y TREHALOSA EN VINOS AMONTILLADOS (mg/l)

<u>Sistema</u>	<u>Criadera</u>	<u>Eritritol</u>	<u>Arabitol</u>	<u>Xilitol</u>	<u>Fructosa</u>	<u>Glucosa</u>	<u>Inositol</u>	<u>Manitol</u>	<u>Sorbitol</u>	<u>Trehalosa</u>
D	3ª	150,6	24,7	45,8	412,3	359,1	418,2	55,6	42,8	18,6
	2ª	197,1	24,2	64,3	520,5	438,4	480,1	64,8	46,9	19,1
	1ª	109,5	23,3	75,9	627,9	831,7	534,4	85,2	61,6	37,6
	Solera	236,1	30,9	73,4	1317	1651	541,5	93,7	69,5	45,6
E	2ª	180,2	26,5	64,6	189,9	trazas	48,1	111,6	79,3	trazas
	1ª	190,8	23,5	55,7	214,0	32,9	62,6	98,9	72,0	trazas
	Solera	129,9	27,6	35,5	159,4	162,4	424,1	106,2	55,0	52,6

T A B L A III

CONTENIDO EN POLIALCOHOLES Y TREHALOSA EN VINOS FINOS(mg/l)

<u>Sistema</u>	<u>Criadera</u>	<u>Eritritol</u>	<u>Arabitol</u>	<u>Xilitol</u>	<u>Fructosa</u>	<u>Glucosa</u>	<u>Inositol</u>	<u>Manitol</u>	<u>Sorbitol</u>	<u>Trehalosa</u>
F	3 ^a	123,6	17,0	24,8	84,9	trazas	110,6	- -	33,7	trazas
	2 ^a	122,7	21,4	28,1	47,3	trazas	74,2	- -	trazas	trazas
	1 ^a	140,3	24,1	31,8	94,4	trazas	173,7	- -	- -	trazas
	Solera	129,8	24,8	30,0	61,3	trazas	268,7	- -	- -	trazas
G	3 ^a	105,4	18,7	22,4	73,8	24,9	372,1	57,3	40,8	trazas
	2 ^a	128,1	30,4	31,4	155,2	33,7	171,0	72,2	49,6	trazas
	1 ^a	140,9	22,5	47,5	242,8	22,0	13,2	58,9	55,1	trazas
	Solera	140,8	28,8	46,3	217,7	29,6	20,9	56,7	55,9	trazas
H	3 ^a	117,2	26,4	36,3	trazas	trazas	334,0	trazas	58,6	trazas
	2 ^a	127,2	23,6	38,7	55,1	trazas	374,0	25,1	73,1	trazas
	1 ^a	122,1	27,3	41,4	35,5	trazas	294,5	trazas	65,5	20,6
	Solera	122,6	25,7	36,6	47,5	trazas	268,4	trazas	12,7	trazas

T A B L A IV

CONTENIDO EN REDUCTORES TOTALES DE LOS SISTEMAS DE SOLERA(g/l)

<u>Tipo de vino</u>	<u>Sistema</u>	<u>Criadera</u>	<u>Reductores totales</u>	<u>Tipo de vino</u>	<u>Sistema</u>	<u>Criadera</u>	<u>Reductores totales</u>
	A	3ª	1,8	Amontillado	E	2ª	1,2
		2ª	3,7			1ª	1,2
		1ª	4,6			Solera	1,4
		Solera	8,4				
Oloroso	B	2ª	2,3		F	3ª	0,9
		1ª	8,6			2ª	0,6
		Solera	8,6			1ª	1,1
						Solera	1,3
	C	3ª	4,8	Fino	G	3ª	1,1
		2ª	5,1			2ª	1,3
		1ª	5,9			1ª	1,1
		Solera	6,8			Solera	1,1
Amontillado	D	3ª	1,9		H	3ª	0,9
		2ª	2,6			2ª	1,0
		1ª	3,0			1ª	0,9
		Solera	4,3			Solera	0,9

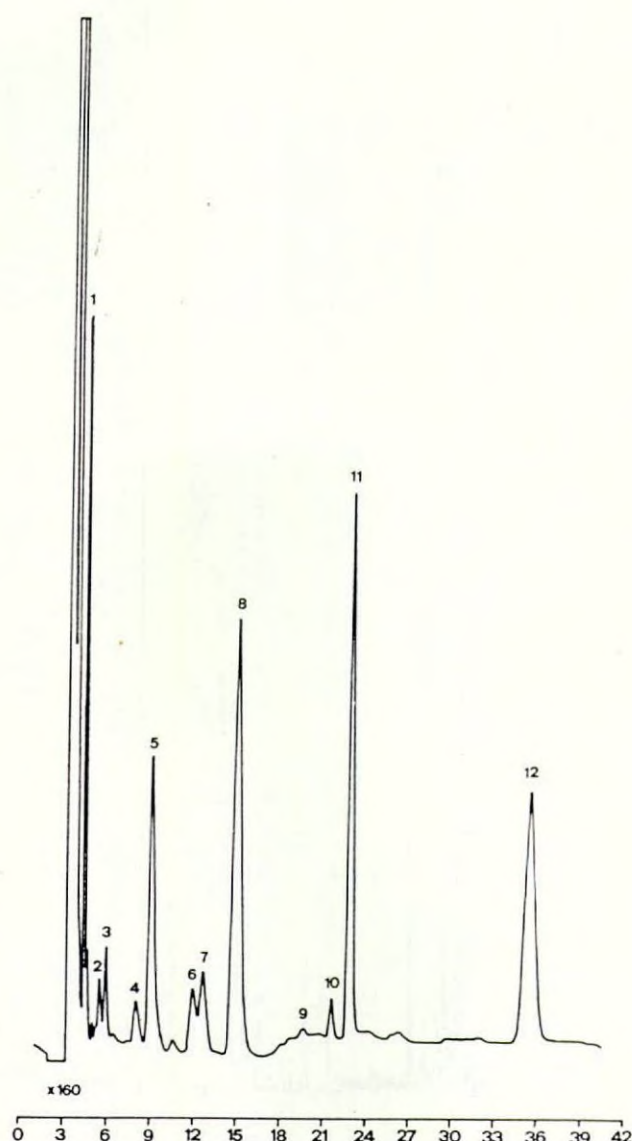


Figura 1.- Cromatograma de trimetilsilil derivados de azúcares y polialcoholes de un vino. 1: Eritritol, 2: Desconocido, 3: Arabitol y Xilitol, 4: Fructosa, 5: Manitol y Sorbitol, 6: α -glucosa, 7: β -glucosa, 8: Inositol, 9 y 10: Desconocidos, 11: β -fenil-glucósido (patrón interno), 12: Trehalosa.

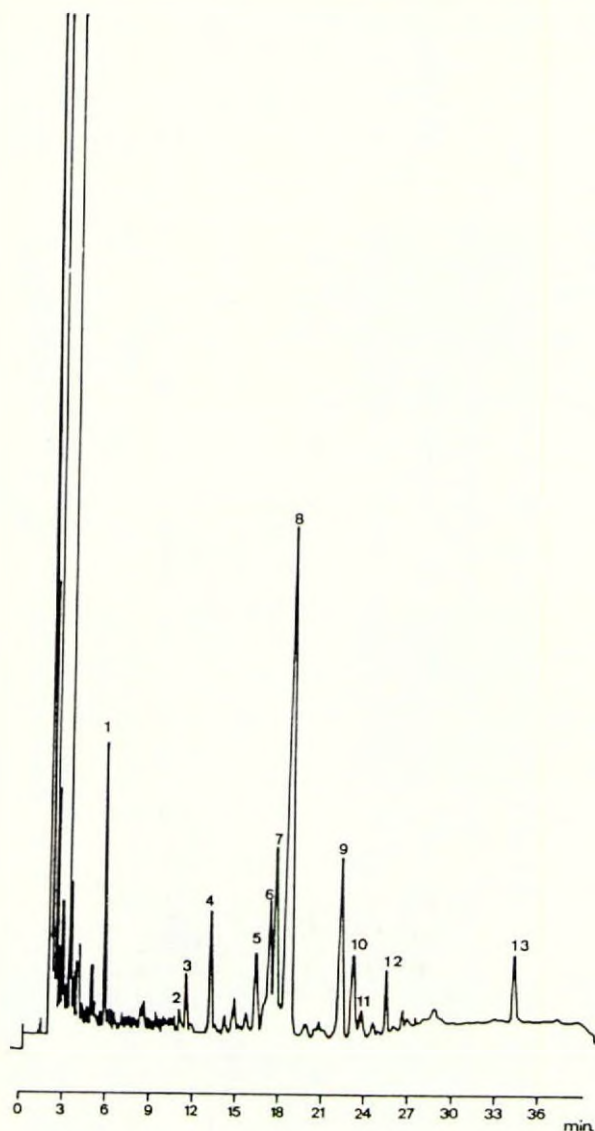


Figura 2.- Cromatograma de los derivados acetilados de azúcares y polialcoholes de un vino. 1: Eritritol, 2: Arabitol, 3: Silitol, 4 y 5: Desconocidos, 6 y 7: Fructosa, 8: Glucosa, 9: Inositol, 10: Manitol, 11: Sorbitol, 12: Desconocido, 13: Perseitol (patrón interno).

CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA RESOLUCION

(Figuras 3,4 y 5)

<u>Nº de pico</u>	<u>Compuesto</u>
1	Acido gálico
2	Acido protocatéquico
3	Hidroximetilfurfural
4	Acido gentísico
5	Aldehido 3,4 dihidroxibenzoico
6	Acido p-hidroxibenzoico
7	Aldehido p-hidroxibenzoico
8	Acido vainillínico
9	Acido caféico
10	Esculetina
11	Acido siríngico
12	p-vainillina
13	Acido p-cumárico
14	Aldehido siríngico
15	Acido ferúlico
16	Escopoletina
17	Conifenilaldehido

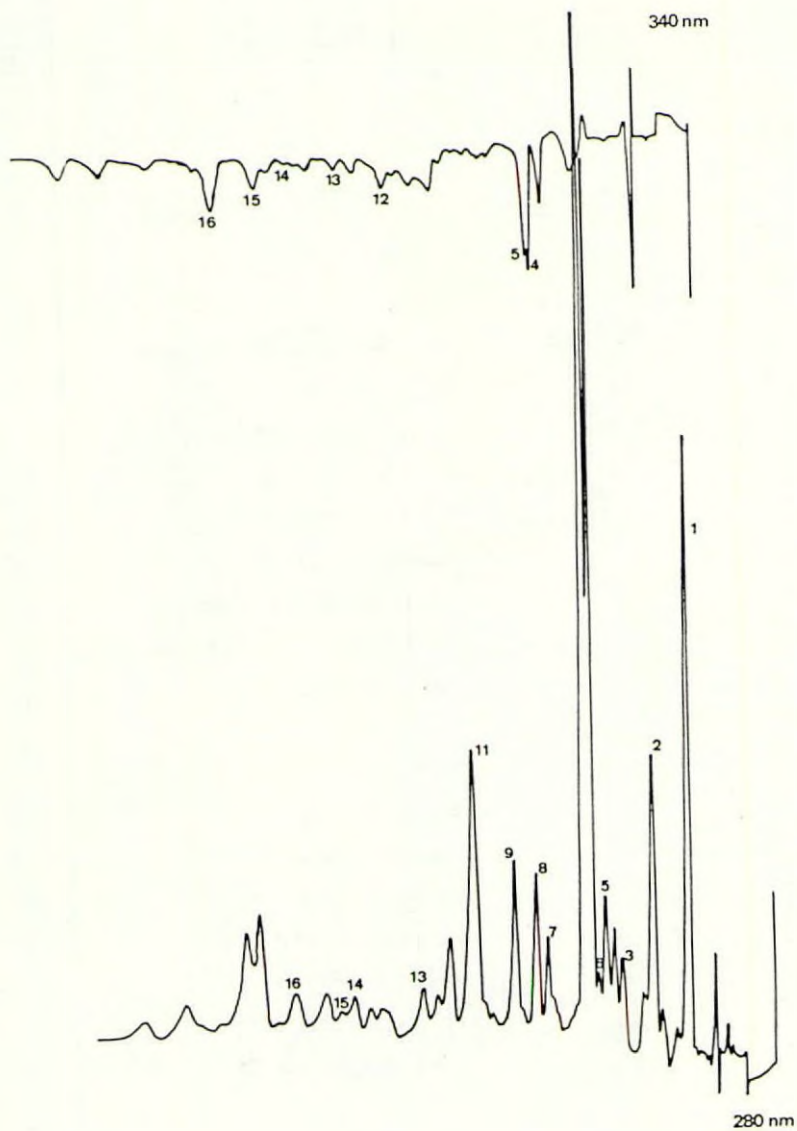


Figura 3.- Solera de fino

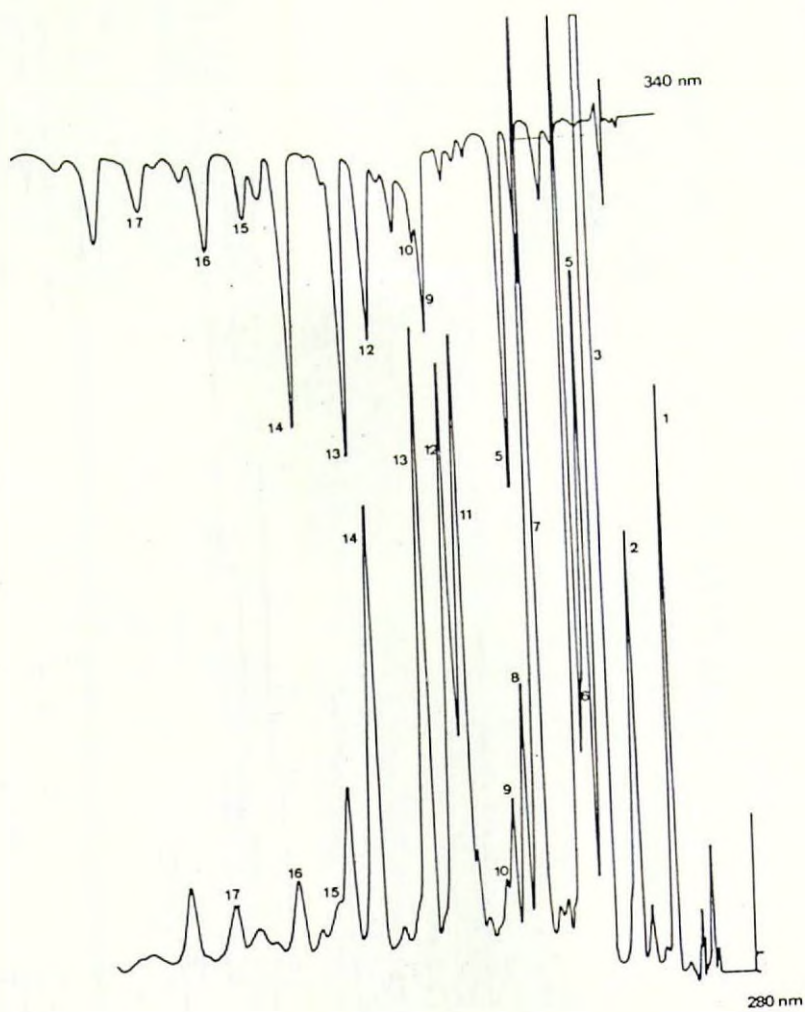


Figura 4.- Solera de oloroso

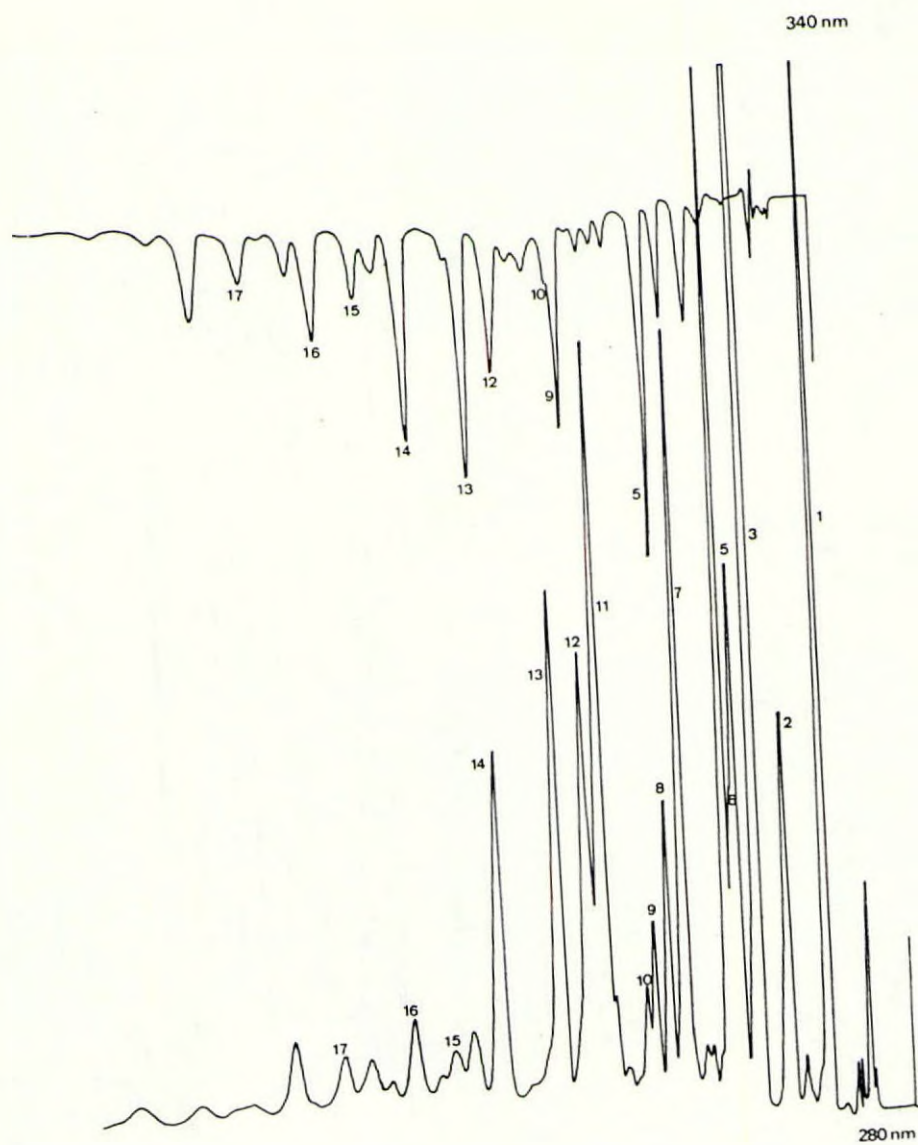


Figura 5.- Solera de amontillado

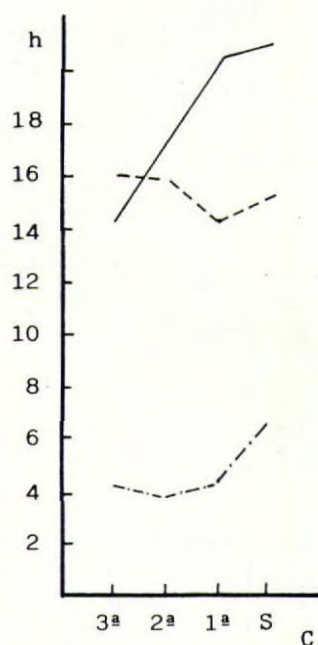


fig.6.- Ac. sirringico

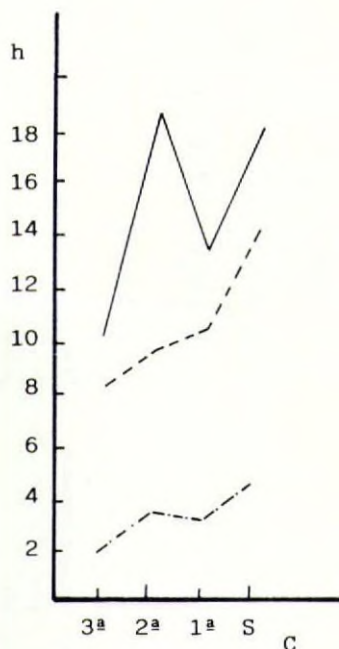


fig.7.- Ac. protocatequico

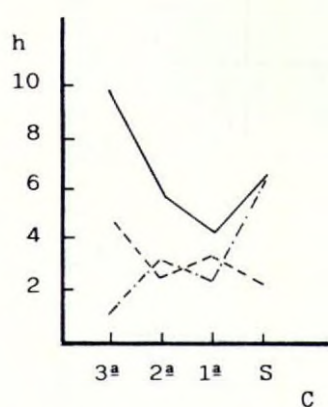


fig.8.- Ac. gálico
 — amontillado
 --- oloroso
 -.- fino

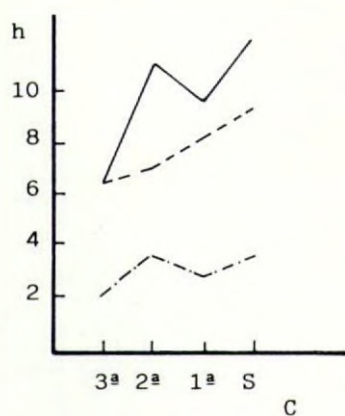


fig.9.- Ac. vainillico

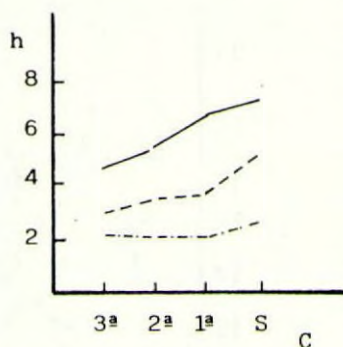


fig.10.- Ac. p-hidroxibenzoico

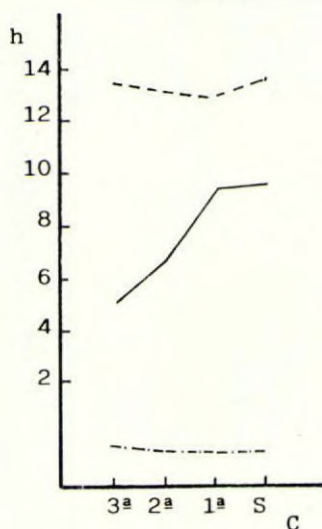


fig.11.- Ac. p-cumárico
 ————— amontillado
 - - - - - oloroso
 - . - . - fino

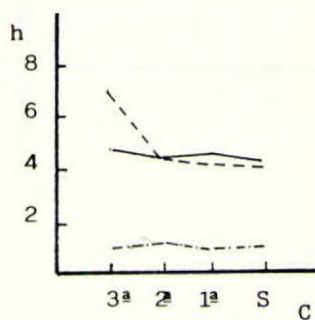


fig.12.- Ac. cafeico

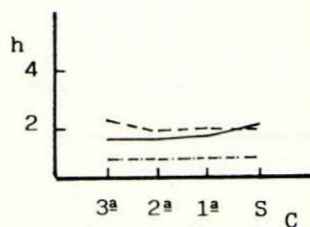


fig.13.- Ac. ferúlico

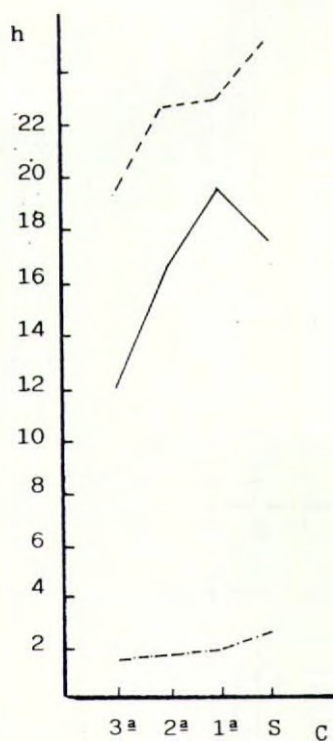


fig.14.- Ald. p-hidroxibenzoico

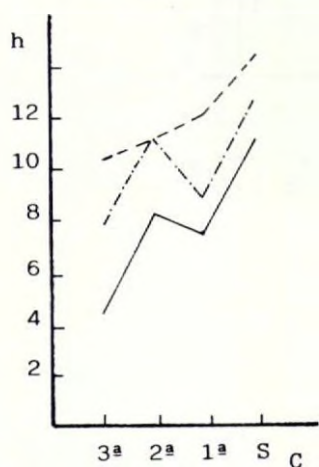


fig.16.- Ald. 3,4 dihidroxiben-

— amontillado
 --- oloroso
 -.- fino

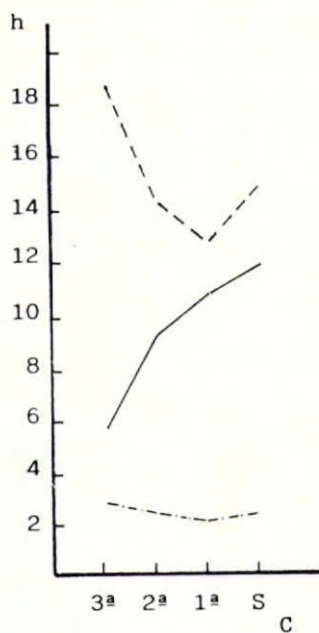


fig. 15.- p-vainillina

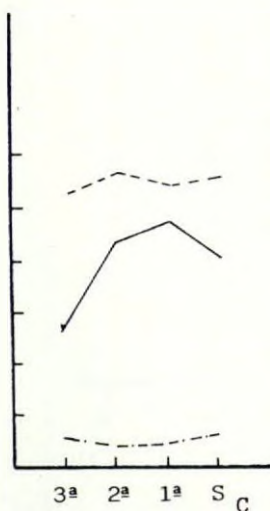


fig.17.- Ald. siringico

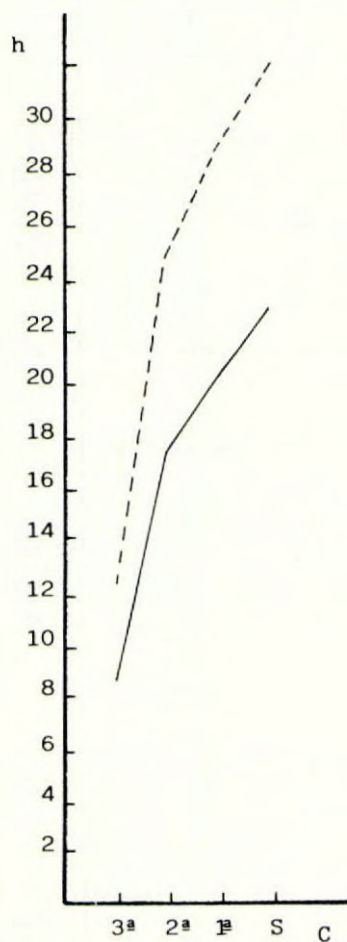


fig.20.- Hidroximetilfurfural

————— amontillado
 - - - - - oloroso
 - · - · - fino

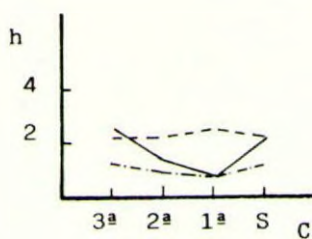


fig.18.- Escopoletina

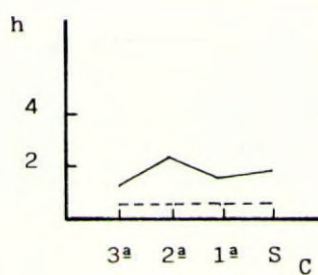


fig.19.- Esculetina

CONTRIBUCION AL ESTUDIO DE LA ALCOHOL DESHIDROGENASA DE UVA

Henao Dávila, F., Gonzalez Cabanillas, S., Mesías Iglesias, J.L.,
Zamora Corchero, R. y Campillo Alvarez, J.E.

Departamento de Bioquímica. Facultad de Ciencias. Universidad de Extremadura.

RESUMEN

Dada la gran importancia que presentan los alcoholes y aldehídos de 6 y 9 átomos de carbono con respecto al aroma herbáceo de mostos y vinos, se ha estudiado uno de los sistemas enzimáticos que puede estar implicado en la formación de estos compuestos como es la alcohol deshidrogenasa. Se pone en evidencia la presencia de una actividad alcohol deshidrogenasa en uvas variedad "Macabeo" con un máximo de actividad a pH 9,5 y marcada termolabilidad, ya que sufre una completa inactivación tras 30 minutos de incubación a 70°C. La actividad enzimática se reduce durante la maduración, volviendo a aumentar al final de la misma.

INTRODUCCION

El aroma es un factor de gran importancia en la calidad e identidad de los vinos y constituye junto a la percepción visual, uno de los sistemas que condicionan la calidad organoléptica.

Las investigaciones realizadas en los últimos años en el campo del aroma de los productos derivados de la vid, han permitido un conocimiento exhaustivo de la composición volátil de la uva, vinos y otras bebidas alcohólicas; composición que asocia a numerosas sustancias con propiedades fisiológicas comunes, en continua transformación metabólica y en medios biológicos donde es difícil establecer leyes físicas exactas.

Pero es evidente que un estudio profundo sobre el aroma de un producto, no puede concluir en una simple enumeración de moléculas identificadas al realizar el análisis, sino además y en especial, debe incluir un estudio sobre los precursores y mecanismos generadores

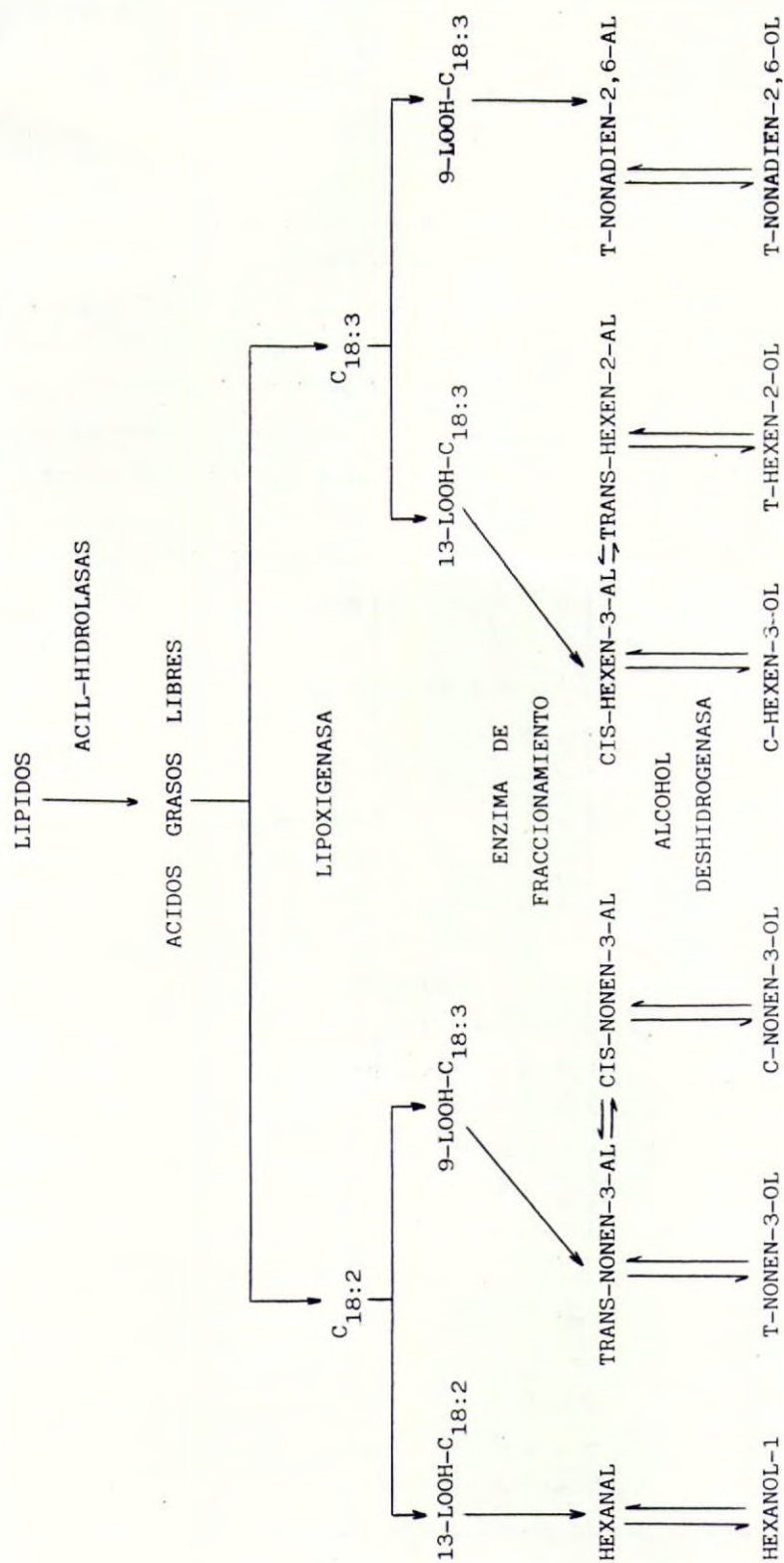
de los componentes volátiles que constituyen el aroma.

Del conjunto de nutrientes básicos de los vegetales, los lípidos se consideran precursores de determinados componentes volátiles implicados en las notas aromáticas "herbáceas" o "verdes" de los vinos blancos, matices desagradables que se intensifican al destruir, por efectos de presión y en presencia de oxígeno, las células intactas de las bayas de uva durante la fase prefermentativa de la vinificación. En consecuencia, mejorar la calidad organoléptica de los mostos y vinos blancos exige conocer la composición lipídica de la uva y los mecanismos implicados en la formación de aldehídos y alcoholes de seis átomos de carbono, principales componentes del aroma "herbáceo", con el fin de poder intervenir para controlar su presencia.

A partir de datos experimentales obtenidos en tomate se admite que la formación en estos vegetales de componentes volátiles, de 6 átomos de carbono, resulta de la acción de varios enzimas que intervienen de forma secuencial, según reacciones que se inician con la degradación oxidativa de ácidos grasos poliinsaturados (linoleico, linolénico, araquidónico), catalizada por enzimas tipo lipoxigenasas, y que conducen a la formación de hidroperóxidos precursores de los aldehídos "herbáceos". Mientras que la lipoxigenasa es la responsable de la formación de hidroperóxidos, la "enzima de fraccionamiento (hidroperóxido liasa) específica de un isómero libera los compuestos carbonílicos por rotura de este hidroperóxido. A su vez la formación de alcoholes a partir de compuestos carbonílicos por vía enzimática directa se cree debida a la acción de la alcohol deshidrogenasa. Esta enzima cataliza reversiblemente las reacciones de reducción y oxidación de los compuestos carbonílicos y de los alcoholes (Esquema 1).

El esquema 1 muestra que se forman dos hidroperóxidos isómeros en el curso de la reacción, según mecanismo de acción propuesto por Hamberg y Sammelson (1) para la lipoxigenasa de soja. Pero según la especie vegetal estudiada, la relación entre las formas 13-LOOH y 9-LOOH, en condiciones experimentales precisas, será diferente y característica de la especie considerada, consideraciones confirmadas en soja (2), tomate (3), y maíz (4).

Chan et al. (5) señalan que la relación entre los isómeros 13- y 9-LOOH puede variar en el curso de la maduración del tomate,



Esquema 1.- Vías de formación de aldehídos y alcoholes de 6 ó 9 átomos de carbono a partir de ácidos grasos poliinsaturados en C₁₈ (1).

incluso con la temperatura y el solvente utilizado para la extracción de los hidroperóxidos formados. Estos autores indican, además, que los fenómenos de isomerización puede producirse, según condiciones de conservación de las muestras, antes de su análisis.

Una "enzima de fraccionamiento", bien bajo el nombre de lipohidroperoxidasa (6) en tomate o de aldehído-liasa en banana (7), se ha aislado, su existencia ha sido establecida por Vick y Zimmerman (8), mientras que otros autores (9, 10) aislan una enzima de fraccionamiento en pepino a la que designan como hidroperóxido liasa. Mientras la lipoxigenasa es generalmente una enzima soluble, la "enzima de fraccionamiento" es una enzima particular, ligada a diferentes estructuras de membranas (11), susceptibles de intervenir a partir del momento en que se producen alteraciones en las estructuras de las membranas, bien por efecto de presión y ruptura o en procesos ligados a la madurez y senescencia vegetal.

La alcohol deshidrogenasa (E.C. 1.1.1.1) se ha puesto en evidencia y aislado a partir de guisantes (12) y de naranja (13), sugiriéndose un funcionamiento en el sentido de reducción de los compuestos carbonílicos, es decir de formación de alcoholes. Por el contrario otros (14) muestran que la adición de etanol, propanol e iso-propanol a tejidos de tomate entraña la producción de acetaldehído, propanal y acetona.

La enzima se ha aislado y caracterizado en tomate (15,16) y uva (17), concluyendo que la alcohol deshidrogenasa juega un papel muy importante en la biogénesis de los alcoholes de 6 átomos de carbono. Estos resultados, corroboran la intervención de la alcohol deshidrogenasa en la biogénesis de los compuestos carbonílicos y de los alcoholes correspondientes.

No cabe duda del interés que estos sistemas enzimáticos presentan en la formación de los componentes aromáticos herbáceos. Frente a los numerosos conocimientos de estos sistemas enzimáticos en divesos vegetales, destacan los escasos datos referentes a estos enzimas en la vid. Por ello uno de los objetivos de nuestra investigación actualmente es aislamiento y estudio de estos enzimas en uvas, con el fin de ver la posibilidad de controlar su actividad lo que nos permitiría regular el proceso de formación de los aldehídos y alcoholes

Mientras que para la enzima lipoxigenasa nuestras investigaciones se encuentran más avanzadas (18), en el caso de la alcohol deshidrogenasa nos encontramos en una primera etapa de investigación, habiendo puesto actualmente de manifiesto la existencia de esta enzima en uvas "Macabeo".

MATERIAL Y METODO

Material vegetal. Las uvas variedad "Macabeo" utilizadas en estos estudios se han recogido en la zona de Tierra de Barros (Badajoz).

Preparacion de extractos crudos. 100 g de uva se homogenizan mediante una ultra-turrax en 100 ml de tampón Tris-HCl 1M pH 7,4 conteniendo DTT 5mM, EDTA 1 mM, polivinilpirrolidona 2% (p/v), el homogenizado se centrifuga a 5000 g durante 15 min, al sobrenadante tras filtrase sobre gasa se le añade CaCl_2 1 M (5% del volumen) posteriormente es centrifugado a 5000 g durante 10 min. El nuevo sobrenadante se filtra sobre gasa y se conserva a -20°C .

Medida de actividad enzimática. La actividad de la alcohol deshidrogenasa se determinó espectrofotométricamente a 340 nm y 25°C siguiendo el aumento de absorbancia producido por la formación de NADH con la ayuda de un espectrofotómetro CECIL Mod. 272. La mezcla de reacción contiene 90 mM tampón Tris- ClH pH 9,5, 0,6 mM de NAD^+ , 3 mM de etanol, 10-100 μl de extracto enzimático hasta un volumen final de 1 ml.

Cuando se utilizaron otros alcoholes como sustratos la concentración de los mismos en la mezcla de reacción fué siempre 3 mM.

Unidad de actividad enzimática. La unidad alcohol deshidrogenasa para la oxidación de etanol es la actividad que cataliza la aparición de 1 μmol de NADH por minuto en las condiciones de ensayo. Se adopta un coeficiente de extinción molar para el NADH de $6,22 \times 10^3$.

Actividad específica. En algunos experimentos se expresa la actividad específica definida como el número de unidades de actividad enzimática por miligramos de proteína.

Medida de proteínas. Las proteínas se determinaron por el método de COOMASSIE-BLUE (19).

RESULTADOS Y DISCUSION

Puesta en evidencia de la actividad alcohol deshidrogenasa. Los extractos crudos de uvas "Macabeo", son capaces de oxidar al etanol en presencia de NAD^+ . La actividad deshidrogenasa de estos extractos ha sido determinada a partir de la reducción del NAD^+ .

La actividad enzimática responsable de la oxidación del etanol es nula cuando los extractos crudos han sido previamente mantenidos a una temperatura de 100°C durante 10 minutos y cuando a la mezcla de reacción se le adiciona acetaldehído en concentraciones elevadas, estos extractos son específicos del NAD^+ .

Estos resultados sugieren la existencia de una actividad alcohol deshidrogenasa en uvas.

Efecto del pH sobre la actividad de la enzima. En la figura 1 comprobamos que la enzima presenta máxima actividad a pH 9,5 en tampón Tris-HCl 100 mM, razón por la cual todos los ensayos enzimáticos se realizaron con este tampón.

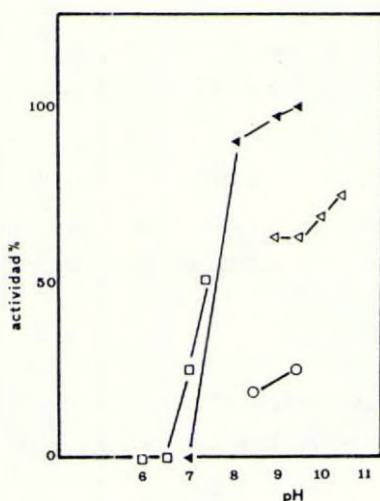


Figura 1. Efecto del pH en la actividad de la enzima en el sentido de oxidación de etanol.
(\blacktriangledown — \blacktriangledown) Tampón Tris-HCl 100 mM
(\triangledown — \triangledown) Tampón Glicina-OHNa 50 mM
(\circ — \circ) Tampón Borato 100 mM
(\square — \square) Tampón fosfato 100 mM.

Efecto de la temperatura sobre la estabilidad de la enzima. La enzima es estable durante 5 minutos a 30°C , mientras que a esta temperatura y durante 30 minutos de incubación la enzima pierde el 20% de su actividad. A 60°C y durante 5 minutos de incubación la enzima ha perdido

solamente el 20% de su actividad, a esta misma temperatura y durante 30 minutos de incubación la enzima pierde el 75% de su actividad.

Sufre completa inactivación tras 30 minutos de incubación a 70°C. Los resultados del estudio de la acción de la temperatura sobre la estabilidad de la enzima aparecen en la figura 2.

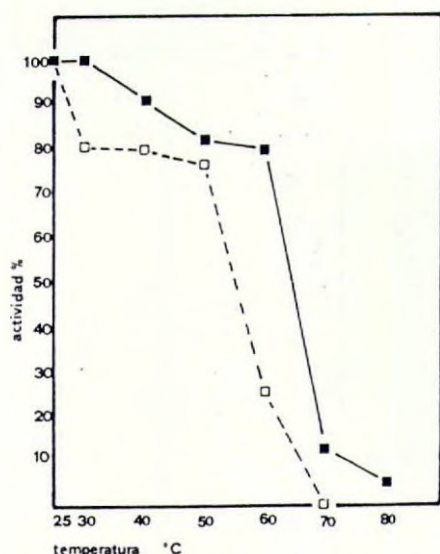


Figura 2. Efecto de la temperatura en la estabilidad de la enzima (■—■) incubación durante 5 minutos (□—□) incubación durante 30 minutos a las temperaturas indicadas.

Cinética de inactivación térmica. Con el fin de evaluar cuantitativamente la termorresistencia relativa de la alcohol deshidrogenasa de los extractos crudos de uvas "Macabeo", se someten estos a la acción del calor, a temperatura definida de 60°C durante diversos intervalos de tiempo, su actividad residual es medida enseguida a la temperatura de 25°C.

La figura 3 representa la cinética de inactivación a 60°C, se observa que durante 10 minutos de calentamiento la enzima ha perdido el 43% de su actividad, a los 20 minutos ha perdido el 62% y a los 35 minutos el 90%.

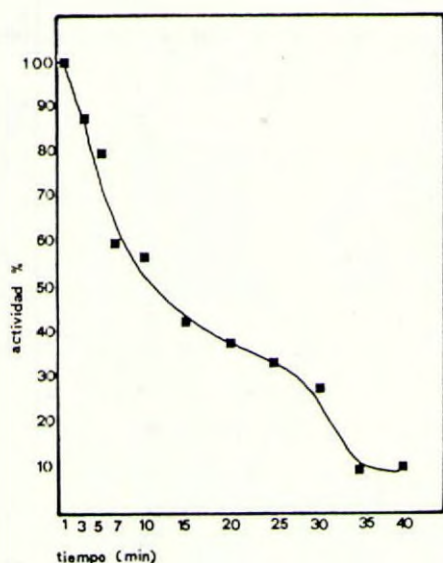


Figura 3. Cinética de inactivación térmica de los extractos crudos de uvas "Macabeo" a la temperatura de 60°C.

Especificidad de sustrato. La determinación de actividades enzimáticas se ha realizado utilizando como sustratos varios alcoholes, comparando sus velocidades de oxidación en presencia de NAD^+ y utilizando como preparación enzimática el extracto crudo. Los resultados se muestran en la figura 4, se observa que los extractos crudos mantienen prácticamente la actividad cuando se utiliza etanol, propanol-2 y pentanol-2 como sustratos. Con metanol, propanol-2 y hexanol como sustratos la actividad enzimática se ve notablemente disminuida.

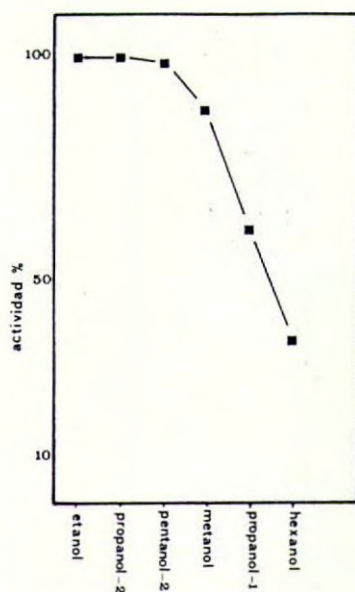


Figura 4. Actividad enzimática de los extractos crudos en relación a diferentes alcoholes como sustrato.

Evolución de la alcohol deshidrogenasa en el curso de maduración de uvas "Macabeo". Se ha determinado actividad enzimática en extractos crudos obtenidos en diferentes épocas del ciclo vegetativo de las uvas variedad "Macabeo", los resultados se muestran en la figura 5.

Se observa una máxima actividad específica en la época en que la uva es completamente verde, disminuyendo en el curso de la maduración y sufriendo un notable incremento en la época de madurez.

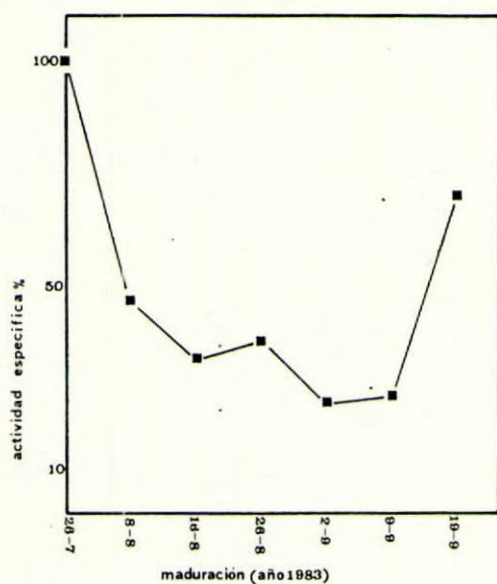


Figura 5. Evolución de la actividad específica de la alcohol deshidrogenasa durante la maduración de uvas variedad "Macabeo".

BIBLIOGRAFIA

- 1.- HAMBERG, M. and SAMMELSSON, B. Biochem. Biophys. Res. Comm., 21, 531-536, (1967).
- 2.- EGMOND, M.R., VIEGENTHART, J.F.G. and BOLDING, J. Biochem. Biophys. Res. Comm., 48 1055-1060, (1972).
- 3.- GALLIARD, T. and MATTHEU, J.A. Phytochem., 16, 339-343, (1977).
- 4.- VELDINK, G.A., GARSEN, G.J., VLEGENTHART, J.G. and VOLDING, J. Biochem. Biophys. Res. Comm., 47, 22-26, (1977).
- 5.- CHAN, H.W.S., COSTARAS, C.T., PRESCOTT, F.A.A. and SWOBODA, P.A.T. Biochem. Biophys. Acta, 338, 347-350, (1975).
- 6.- KAZENIAC, S.J. and HALL, R.M., J. Food Sci., 31, 644, (1970).
- 7.- TRESSL, R. and DRAWERT, F., J. Agric. Food Chem., 21, 560-565, (1973).
- 8.- VICK, B.A. and ZIMMERMAN, C., Plant. Physiol., 57, 780-788, (1976).
- 9.- PHILLIPS, D.R. and GALLIARD, T., Phytochem., 17, 355-358, (1978).
- 10.- GALLIARD, T., PHILLIPS, D.R. and REYNOLDS, J. Biochem. Biophys. Acta, 441, 181-192 (1976).
- 11.- WORDALE, D.A., LAMBERT, E.A. and GALLIARD, T. Phytochem., 17, 205-212, (1978).
- 12.- ERIKSON, C.E. J. Food Sci., 33, 525-532, (1968).
- 13.- BRUEMMER, J.H. and ROER, B. J. Agric. Food Chem., 19, 524-529, (1971).
- 14.- MEIGHT, D.F., PRATT, H.K. and COLE, C. Nature, 211, 419-20, (1966).
- 15.- NICOLAS, M. and CROUZET, J. Compt. Rend. Acad. Sci., t-283, 559-561, (1976).
- 16.- NICOLAS, M. and CROUZET, J. Phytochemistry, 19, 15-18, (1980).
- 17.- MOLINA, I. Facteurs biochimiques de la formation des flaveurs herbaces. Etude de l'alcool deshydrogenase du raisin (Variété Carignan) These 3^{er} Cycle. Montpellier.
- 18.- ZAMORA, R., MESIAS, J.L., MAYNAR, J.I. Amer. J. Enol. Vitic. Pendiente de aceptación.
- 19.- SPECTOR, T. Analytical Biochemistry, 86, 142-146, (1978).

ESTUDIO DEL FACTOR MATADOR DE LAS LEVADURAS VINICAS

Casas Asin, J.A.

Centro de Investigación, Desarrollo y Control de Calidad de González Byass S.A.

Trabajo realizado en el Departamento de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad de Sevilla.

RESUMEN

Hay cepas de levaduras que poseen un ARN de doble cadena que sintetiza una proteína que es letal para otras cepas. Este fenómeno, conocido como factor matador, también está presente en las levaduras de vinificación, donde la frecuencia de aparición es variable.

EL estudio electroforético de los ARNs de las levaduras vínicas demuestra que es diferente al ya conocido de las levaduras de colección estudiadas, pues tienen una migración electroforética diferente.

Si se transfieren mediante conjugación los dos sistemas matadores a una misma célula, solo se expresará el sistema matador uno, aunque electroforéticamente se detecten ambos.

INTRODUCCION

En 1963 Makover y Bevan (6) descubrieron que ciertas estirpes de levaduras eran capaces de sintetizar una toxina letal para otras estirpes de levaduras de la misma o diferente especie. Atendiendo a su comportamiento se describieron tres tipos de levaduras, a las que se denominaron matadoras, neutras y sensibles. Las matadoras son aquellas levaduras que son capaces de sintetizar y excretar al medio una proteína, la toxina matadora, y son resistente a su acción. Usando la notación fenotípica de Wickner (11) estas estirpes son K^+R^+ . Las estirpes neutras, K^-R^+ , son incapaces de sintetizar la toxina, pero son resistentes a su acción. Las estirpes sensibles, K^-R^- , son aquellas que ni sintetizan la toxina ni son resistentes a su acción.

Diez años más tarde, Naumov (7) descubrió que las levaduras de vinificación sintetizaban una toxina diferente a la hasta entonces conocida, pues no había inmunidad cruzada entre las levaduras matadoras de colección de laboratorio anteriormente estudiadas y las levaduras

matadoras aisladas en el proceso de vinificación. Para distinguirlo del anterior se le denominó sistema matador dos.

La toxina matadora es sintetizada por un ARN de doble cadena que al tratarlo electroforéticamente presenta dos bandas, denominadas L y M. La banda L se encuentra en las cepas matadoras y sensibles, mientras que la banda M solo se encuentra en las cepas matadoras. Estos ARNs se encuentran en el citoplasma, envueltos en una cápsula proteica, por lo que se ha especulado con un origen vírico.

Este era el conocimiento que había cuando iniciamos el trabajo cuyo objetivo fue estudiar el factor matador en las levaduras de vinificación. A lo largo del mismo (2,3) hemos dedicado una primera parte al estudio taxonómico del género Saccharomyces en las levaduras de vinificación de varias bodegas de Los Palacios (Sevilla), Almendralejos (Badajoz) y, La Palma del Condado y Bollullos Par del Condado (Huelva); para en una segunda parte, que consideramos la fundamental investigar la presencia y acción del factor matador de estas levaduras, así como su caracterización bioquímica y comportamiento genético.

MATERIAL Y METODO

Las cepas vínicas utilizadas han sido las aisladas por nosotros a partir de mostos en fermentación de las regiones antes citadas.

Para caracterizar el factor matador hemos utilizado las cepas sensibles standard Sacch. cerevisiae X17/17 y matadora standard Sacch. cerevisiae 10701C.

El estudio taxonómico de las cepas aisladas se ha hecho según el Tratado de Taxonomía de Lodder (4).

El medio de cultivo utilizado para el crecimiento de las levaduras ha sido YEPD (2% de glucosa, 2% de peptona, 1% de extracto de levadura y 2% de agar). Este medio con un pH de 4,5 también ha servido para aislar las levaduras a partir de los mostos.

El medio de cultivo para la caracterización del factor matador fue el Medio Azul de Metileno, cuya composición es como la del YEPD pero tamponado a pH 4,5 mediante adición de tampón citrato-fosfato y al que después de la esterilización se le añade azul de metileno a una concentración final de 0,0003%.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados globales de la taxonomía de los aislamientos son los siguientes:

	<u>Almendralejo</u>	<u>El Condado</u>	<u>Los Palacios</u>
<u>Sacch. cerevisiae</u>	176	40	46
<u>Sacch. chevalieri</u>	21	55	1
<u>Sacch. fermentati</u>	36	6	2
<u>Sacch. rosei</u>	21	15	0
<u>Sacch. italicus</u>	2	1	0

Una vez identificados los aislamientos, procedimos a estudiar su comportamiento matador, para lo cual usamos dos cepas de referencia: una cepa matadora de laboratorio, Sacch. cerevisiae 10701C y una cepa sensible de laboratorio Sacch. cerevisiae X17/17. El fenotipo matador se estudia preparando un césped de la estirpe sensible sobre el que se coloca las estirpes a estudiar. Al hacer este experimento observamos cuatro tipos diferentes de comportamiento frente a la cepa sensible, que denominamos (ausencia de halo y por lo tanto comportamiento no matador): -; (aparición de un débil halo de inhibición): h; (formación de un halo más amplio que el anterior): h_2 ; (halo de gran tamaño): H_2 . Frente a la cepa matadora de laboratorio solo obtuvimos dos tipos de comportamiento, que hemos denominado - (ninguna actividad matadora) y h (formación de un pequeño halo).

Detectamos fenotipo matador en las cinco especies encontradas, aunque no en todas las regiones hemos obtenido el mismo porcentaje de matadores, como se puede ver en el cuadro siguiente:

	<u>H</u>	<u>h_2</u>	<u>h</u>	<u>-</u>
Almendralejo	3,9	1,95	81,25	12,89
El Condado	44,44	1,70	36,75	17,10
Los Palacios	38,77	4,08	42,85	14,28

Estos resultados confirman las diferencias obtenidas por Barre (1) y Radler (8), pues mientras el primero encuentra un 50% de matadores, el segundo tan solo encuentra un 10%; como estos datos indican, las levaduras portadoras de factor matador no están distribuidas en la naturaleza en proporciones uniformes.

Visto el comportamiento frente a las estirpes de laboratorio,

estudiamos si existían interacciones entre las cepas vínicas, para lo cual dividimos los aislamientos que producían un halo de mayor tamaño, es decir H y h_2 , en grupos, atendiendo para ello a cuatro características:

- año de aislamiento
- bodega en la que se tomó la muestra
- especie a la que pertenece la levadura
- tipo de halo producido

Haciendolo de esta manera nos salieron 35 grupos. Elegimos un representante de cada grupo y realizamos la experiencia poniendo un cesped del representante de cada uno de estos grupos y sobre el cual colocabamos un poco de biomasa de todas las demás estirpes con ayuda de un palillo. El resultado fue que se podía clasificar los 35 grupos estudiados en clases atendiendo a su espectro matador frente a las cepas matadoras vínicas:

- la clase I se caracteriza por no poseer ninguna actividad matadora
- la clase II tiene una débil acción matadora
- la clase III posee un espectro matador un poco más amplio y sobre todo más regular, matando a todos los h_2
- la clase IV ejerce una acción matadora más amplia que la anterior
- la clase V tiene un espectro matador más amplio, y se caracteriza por matar a los componentes de la clase III

También en este estudio descubrimos la existencia de los neutros vínicos, es decir, estirpes que sin matar a ningún otro vínico, tampoco son matados por ningún matador vínicos aunque si son matados por la estirpe matadora de laboratorio. Estas levaduras no habían sido descritas aún en la literatura.

Una vez visto el diferente comportamiento fenotípico, quisimos ver si daba lugar a un comportamiento electroforético diferente, para lo cual hicimos electroforesis en gel de poliacrilamida tanto de las estirpes de laboratorio usadas como referencia como de las cepas vínicas, según el método descrito por Sweeny (9). El resultado fue que mientras las estirpes de laboratorio daban las bandas ya descritas en la literatura por Wickner (11) (una banda L la estirpe sensible y dos bandas, L y M, la estirpe matadora) las cepas vínicas tenían un comportamiento distinto. Así la estirpe Sacch. cerevisiae 20, que tiene un

comportamiento neutro, solo tiene la banda L, mientras que las estirpes neutras de laboratorio descritas en la literatura tienen dos bandas, una L y otra M, aunque esta última es defectuosa. Dentro de las matadoras vínicas aparecían estirpes con dos bandas, como la estirpe Sacch. cerevisiae 19, y otras que tenían más de dos bandas, como eran los casos de Sacch. chevalieri 301 que tenía cuatro bandas, o la estirpe Sacch. cerevisiae 188 que tenía cinco bandas.

Gracias a unos estudios electroforéticos en placas de gel de poliacrilamida pudimos comprobar que todas las bandas L bandean en el mismo sitio, tanto las de laboratorio como las vínicas y que todas las vínicas con más de una banda, la segunda bandea a la misma altura, es decir, tienen la misma migración electroforética, pero diferente a la migración de la banda M de la cepa de laboratorio.

También hemos estudiado la estabilidad de los dos sistemas matadores cuando se encuentran en la misma célula. Para ello hemos usado la cepa Sacch. cerevisiae K5-5A-2, que se caracteriza por fusionar citoplasmas pero no núcleos en el proceso de conjugación con lo cual se obtienen heteroplasmosntes (4).

Primero había que saber si el sistema matador vínico era estable en una estirpe de laboratorio, para lo cual lo transferimos a la estirpe Sacch. cerevisiae K5-5A-2, observando que la estabilidad era total, aunque su comportamiento electroforético no siempre era igual al de su parental vínico. Se hizo el experimento de transferir el sistema matador vínico a una célula que ya poseía el sistema matador de laboratorio mediante conjugación, y el heteroplasmonte así formado tenía un comportamiento matador idéntico al del sistema matador de laboratorio, no expresándose nunca el sistema matador de las estirpes vínicas, aunque a nivel electroforético se detectaban las bandas de este segundo sistema matador.

Pensando que el hecho de que la célula receptora poseyera ya el sistema matador de laboratorio pudiera tener alguna influencia sobre el sistema matador que luego iba a expresarse, se hizo el experimento inverso, es decir, a la estirpe de laboratorio con el sistema matador vínico se le transfirió el sistema matador de laboratorio, siendo el resultado final el mismo: a nivel fenotípico solo se detecta el sistema matador de laboratorio, aunque, como en el caso anterior, al hacer el estudio electroforético de estos heteroplasmosntes se detectan

también las bandas del sistema matador vínico.

Considerando que el fondo genético de la célula receptora de los dos sistemas pudiera tener alguna importancia sobre el sistema matador predominante al final, se realizó el experimento de transferir el sistema matador de laboratorio a las estirpes vínicas. Al obtener este nuevo heteroplasmonte se pudo comprobar que su comportamiento fenotípico era el mismo que en casos anteriores, es decir, se comportaba como si solo poseyera el sistema matador de laboratorio, aunque, de nuevo, se detectaban electroforéticamente las bandas correspondientes al sistema matador vínico.

Estos resultados de no expresión del sistema matador vínico cuando está en la misma célula que el sistema matador de laboratorio concuerdan con los resultados presentados por Wickner (12). Ahora bien, mientras este autor no detecta las bandas del sistema matador vínico, por lo que creen que desaparecen, en nuestro caso se han podido poner en evidencia mediante electroforesis.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Barre, P. Colloque de Microbiologie Industrielle et de Biotechnologie. Reims. (1981).
- 2.- Casas Asín, J. A. Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla (1982).
- 3.- Casas Asín, J. A. Tapport de Stage. Université de Bordeaux (1984).
- 4.- Conde Zurita, J.; Fink, G. R. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 73, 3651-3655, (1976)
- 5.- Lodder, J. The Yeast, a taxonomic study. North-Holland Publishing Company. Amsterdam (1974).
- 6.- Makover, M.; Bevan, E. A. Proc. Int. Congr. Genet. XI, 1, 202, (1963).
- 7.- Naumov, G. I.; Tyurina, L. V.; Buryan, N. I.; Naumova, T. I. Biol. Nauki. 16, 103-107, (1973).
- 8.- Radler, F. Bull. O. I. V. 53, 568-572, (1980).
- 9.- Sweeney, T. K.; Tate, A.; Fink, G. R. Genetics, 84, 27-42, (1976).
- 10.- Vodkin, M. H. Fink, G. R. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90, 1069-1072, (1973).
- 11.- Wickner, R. B. Bacteriol. Rev., 40, 757-773, (1976).
- 12.- Wickner, R. B. Cell, 21, 217-226, (1980).

DETERMINACION AUTOMATIZADA DE INDICE DE POLIFENOLES TOTALES MEDIANTE ANALISIS POR INYECCION EN FLUJO (FIA)

J. Buitrago, R. Cela, M. Milla, J.A. Pérez-Bustamante

Departamento de Química Analítica. Facultad de Ciencias de Cádiz.

RESUMEN

Se presentan los resultados experimentales de la utilización de la técnica de análisis por inyección en flujo (FIA) para la determinación del contenido de polifenoles totales en vino, empleando el método de Jerumanis y ácido tánico como patrón. Una vez encontrado el diagrama de flujo adecuado, el método Simplex permite la optimización en pocas experiencias de los diferentes parámetros del sistema, consiguiéndose en las condiciones óptimas halladas una frecuencia de análisis de 200 muestras/hora, con una reproducibilidad del 3,4% y un bajo consumo de reactivos.

INTRODUCCION

El análisis por inyección en flujo (FIA) es una técnica de análisis automatizado que se ha desarrollado de una forma espectacular a partir de la mitad de la pasada década (1,2). Está basada en la inserción secuencial de volúmenes altamente reproducibles de muestra en una corriente fluida no segmentada. El transporte de la muestra se lleva a cabo en condiciones de riguroso control de la dispersión, de manera que la dilución de la muestra inyectada en el sistema pueda ser convenientemente manipulada. Al mismo tiempo, la muestra experimenta una reacción química con los componentes de la corriente portadora y los productos de reacción se detectan adecuadamente al final del sistema. El funcionamiento del sistema se comprende fácilmente observando el esquema representado en la Figura 1, que corresponde al diagrama de flujo más sencillo, junto a un diagrama típico de las señales analíticas obtenidas para diferentes velocidades de carta en el sistema de registro. La muestra inyectada en el punto M es arrastrada por la corriente portadora al helicoide o reactor C donde tiene lugar la reacción en una cierta extensión, detectando

se los productos en el detector D. La clave de la operatividad del sistema reside en:

- a) inyección de volúmenes de muestra perfectamente reproducibles
- b) control del tiempo de residencia de la muestra en el sistema o, lo que es equivalente, control de la dispersión.

En estas condiciones, la utilización de esta técnica permite el manejo de más de 100 muestras por hora, con un alto grado de reproducibilidad y exactitud. Al ser innecesaria la consecución del equilibrio químico de la reacción, el tiempo de residencia de la muestra llega a ser de varios segundos, lo que implica una velocidad de análisis elevada. Por otra parte el sistema es capaz de procesar muestras cuyos componentes dan lugar a reacciones de cinética lenta.

Todo ello unido a la gran variedad de detectores que pueden utilizarse, hace que el análisis por inyección en flujo sea una técnica de extraordinaria versatilidad que puede adaptarse a la resolución de un gran número de problemas analíticos. De su interés y utilidad en la aplicación al análisis rutinario puede servir de ejemplo el Centro de Energía Nuclear en Agricultura (CENA) de Brasil, en el cual, de las 300.000 determinaciones realizadas en 1982, un 30% fueron llevadas a cabo mediante sistemas FIA, con velocidades de muestreo de 120-360 determinaciones/hora (3).

En conclusión, la elevada velocidad de procesamiento de muestras, el bajo consumo de reactivos, la versatilidad en cuanto a parámetros de cuantificación analítica, la gran variedad de sistemas de detección, unido a la simplicidad y bajo coste del equipo, que puede llegar a ser diez o más veces inferior al de un equipo analítico convencional, hace que esta técnica presente ventajas destacadas sobre todo cuando es necesario procesar un gran número de muestras o realizar un control continuo en un proceso industrial.

PARTE EXPERIMENTAL

Reactivos utilizados

Citrato férrico amoniacal, AEDT, ácido gálico y acetato de fenil mercurio (Merck); ácido tánico (Eastman); amoníaco (Panreac) y carboximetilce

lulosa sódica (Sniace).

Todas las disoluciones son desgasificadas sumergiéndolas durante un minuto en un baño ultrasónico.

Aparatos

Analizador de inyección en flujo 5001 FIAstar (Tecator)

Espectrofotómetro UV-V SP8 200 (Pye Unicam)

Bomba peristáltica MP-3 (Eyela)

Microordenador Apple II

RESULTADOS Y DISCUSION

En la presente comunicación se describe la utilización de la técnica FIA para la determinación del Índice de Polifenoles Totales (IPT) en vinos finos de Jerez, mediante el método de Jerumanis (4). Este método se basa en la reacción del citrato férrico amoniacal, en medio básico, con la formación de un complejo coloreado de Fe(III)-compuesto polifenólico cuya absorbancia se mide a 525 nm.

Se ha elegido este método frente al más conocido de Folin-Ciocalteu debido a sus ventajas sobre éste en la no interferencia de compuestos que, como el SO_2 , el ascórbico y sustancias nitrogenadas, están habitualmente presentes en los vinos (5).

En la determinación del IPT se suele referir la absorbancia de la muestra a una curva de calibrado previamente establecida con un polifenol patrón (generalmente ácido gálico o tánico). Resumimos en este índice, por tanto, la respuesta analítica de los numerosos y muy diferentes compues-
tos polifenólicos que están presentes en el vino. El índice obtenido no es más que una estimación, necesariamente arbitraria, que variará en función del ensayo utilizado, pero que resultará de mucha utilidad en el estudio de la evolución del conjunto de los polifenoles en los procesos de prensada, desfangado, envejecimiento, etc., fundamental cuando se pre-
tende obtener vino de calidad.

La carboximetilcelulosa sódica (CMC-Na, disolución acuosa al 1%) que es añadida en el ensayo de Jerumanis como coloide protector, se ha com-
probado que es innecesaria en FIA. Se consigue con ello un diseño más sen

cillo y se evitan al mismo tiempo los inconvenientes derivados del aumento de viscosidad de la corriente portadora.

Diagramas de flujo. Un primer paso en la puesta a punto de un método mediante FIA consiste en la elección del diagrama de flujo más adecuado. De los dos diseños mostrados en la Figura 2, las pruebas realizadas indicaron que el diseño B era el más adecuado debido a su mayor reproducibilidad y sensibilidad. En este diseño de flujo, el orden de contacto entre muestra y reactivos es similar al del método realizado en matraz. El estudio de la variación de la absorbancia a distintas longitudes de onda presentado en la Figura 3 muestra que tanto para el patrón estudiado (ácido tánico) como para el vino, el máximo se encuentra a la longitud de onda de 525 nm, siendo este máximo muy poco pronunciado.

En la Figura 4a se presenta la inyección ininterrumpida de muestras durante 90 min, apreciándose la subida de la línea base, posiblemente a causa de la formación de hidróxido de hierro(III) en el medio amoniacal de la reacción. Esto puede evitarse introduciendo periódicamente un ciclo de lavado de corta duración (30 s) con HCl 1N. Con ello se consigue un retorno de la línea base al valor inicial cero. Este es el procedimiento representado en la Figura 4b. No obstante, y como se muestra en las mencionadas figuras, la altura de pico no se ve afectada en ningún caso. Igualmente se comprobó que repetidas inyecciones de ácido tánico a distintas concentraciones no altera el valor obtenido en las muestras de vino inyectadas, tal como se muestra en la Figura 5.

Elección del patrón polifenólico. Inicialmente, en la puesta a punto de este método, se tomó ácido gálico como patrón, construyendo una curva de calibrado del mismo con anterioridad a la inyección de las muestras, refiriendo a las mismas las señales obtenidas en ésta y expresando así el resultado en mg/l de ácido gálico equivalente (GAE).

Como puede observarse en la Figura 6, la altura de señal, tanto del patrón polifenólico como de la muestra de vino, es función del valor de las condiciones experimentales: velocidad de flujo, concentración de reactivos, tamaño de la muestra inyectada y longitud de los reactores u

tilizados. Sin embargo, estas condiciones afectan a los distintos polifenoles de forma desigual, y, como consecuencia, el valor del IPT de una determinada muestra obtenido por interpolación en la curva de calibrado de patrón polifenólico, realizado en las mismas condiciones experimentales, presenta valores variables. De ello se deduce la necesidad de construir la correspondiente curva de calibrado para cada condición experimental. En la Figura 6 la concentración de los reactivos está expresada en tanto por uno de la respectiva disolución utilizada para el mismo método en matraz.

Optimización del sistema. La optimización de sistemas FIA que puede encontrarse en la bibliografía (6,7) considera como función objetivo del proceso experimental de optimización la altura de señal analítica, lo que implica que dicha optimización se refiere a la obtención de la máxima sensibilidad posible del método. No obstante, en nuestra opinión, y especialmente cuando la técnica FIA debe aplicarse a un método rutinario de análisis que, como el aquí considerado, permite la obtención de un índice arbitrario, no se debe en absoluto tratar de conseguir una mayor sensibilidad, sino por el contrario una perfecta coincidencia entre los resultados obtenidos mediante la técnica FIA con aquellos ofrecidos habitualmente por el método que se pretende automatizar y, en este caso, lograr un máximo en la relación señal/ruido para la técnica FIA.

La compleja influencia de las variables del sistema sobre la respuesta obtenida la podríamos resumir en:

- 1.- El IPT disminuye conforme aumenta el tamaño de la muestra inyectada, al aumentar la longitud de los reactores, disminuir la velocidad de flujo o aumentar la concentración de los reactivos. Así, por ejemplo, puede citarse que al pasar la concentración de reactivos de 0.025 a 0.050, el IPT pasa de 64 a 21 mg/l GAE.
- 2.- En cuanto a la altura de señal, la relación de las variables es más complicada y es el resultado de dos factores contrapuestos: al pretender aumentar el grado de la reacción (flujo más lento, mayor longitud de conducciones), la dispersión aumenta considerablemente. Por

otra parte, las condiciones que aumentan la señal van por el contrario en detrimento de la reproducibilidad. Inyecciones de muestra superiores a 100 μ l llevan consigo, por ejemplo, la aparición de un doble pico y una reproducibilidad muy mala.

3.- La velocidad de análisis aumenta según lo hace el flujo y según disminuye la cantidad de muestra inyectada y la longitud del primer reactor (el segundo reactor apenas afecta a este parámetro).

Los resultados obtenidos utilizando ácido gálico como patrón se pueden resumir en la experiencia reseñada en la Tabla I. Se puede observar en estos datos la gran diferencia en el IPT resultante de los ensayos de Jerumanis en matraz y por FIA.

Otras pruebas que implicaban condiciones extremas de las variables del sistema, diseños más complejos o la inclusión de cámaras de mezcla, no consiguieron en ningún caso valores del IPT en FIA superiores al 70% del correspondiente valor en matraz. Por el contrario, en los ensayos realizados con ácido tánico como patrón se observó que, manipulando convenientemente las variables del sistema, se consiguen valores del IPT del vino analizado muy similares a los obtenidos realizando el ensayo en matraz. La influencia de las variables sobre las características de la señal obtenida coincide con lo ya anteriormente señalado.

En la Tabla II se presentan los valores del IPT en matraz y en experiencias con FIA en las condiciones allí señaladas, realizadas a lo largo de 15 días. Se puede observar en ella unos valores del orden del 85% de los correspondientes en matraz. Las seis muestras analizadas corresponden a seis vinos finos comerciales. Asimismo se señalan los valores de desviación estándar relativa (RSD, %) que pueden considerarse aceptables para medidas realizadas en el intervalo de tiempo señalado.

Esto mismo puede verse en la Figura 7, donde se representan las gráficas correspondientes a dos de estas experiencias. Se destaca además el hecho de que al variar el orden de inyección de las muestras en las distintas experiencias no altera el valor obtenido para las mismas.

Optimización de las variables por el método Simplex. Las experiencias de optimización a que hemos hecho referencia hasta aquí se han realizado mediante el método convencional de dejar todas las variables fijas a excepción de una de ellas, y encontrar el valor óptimo de ésta, volviendo a repetir el proceso con cada una de las demás variables. Este procedimiento, cuando se manejan gran número de factores como es nuestro caso, supone un enorme número de experiencias, sin que por ello esté garantizada la obtención del óptimo, especialmente si las variables están interrelacionadas de tal forma que, si modificamos una de ellas buscando su óptimo, habrá variado el óptimo de las demás variables del proceso. Además, el óptimo encontrado en un sistema experimental determinado tendrá que ser corregido si se pretende emplear otro sistema, pues éste implicará distintas condiciones en su construcción, conexiones, geometría del detector, etc.

Por todo ello se vió necesaria la puesta a punto de un método sistemático y rápido de optimización para la determinación del IPT de vinos mediante FIA. El más adecuado para este propósito es probablemente el método Simplex (8-11).

El método Simplex, que ha sido aplicado con éxito a la optimización de numerosos procesos analíticos (10), es un método secuencial; cada nueva experiencia viene determinada por los resultados obtenidos en las experiencias precedentes, de forma que no se precisa de una planificación del proceso de optimización. El método Simplex, muy bien descrito en la bibliografía, se basa en el movimiento sobre la superficie de respuesta en busca del valor óptimo (máximo o mínimo valor de la función objetivo) de una figura geométrica definida por un número de puntos igual al número de variables del sistema más uno. En nuestro caso se ha utilizado el denominado método Simplex modificado (12).

El óptimo buscado será siempre una solución de compromiso entre varios requisitos. En nuestro caso, fundamentalmente la concordancia entre el valor del IPT obtenido en matraz y el correspondiente en FIA, así como la altura de pico. Compensando estos dos factores, se ha definido u-

na función objetivo (que nos dará los valores de la superficie de respuesta correspondientes a cada experiencia y que por lo tanto nos da una medida del mayor o menor acierto de esas condiciones experimentales) que resulta ser:

$$\text{Función objetivo} = (\text{IPT}_m - \text{IPT}_F)^{1,5} - A \cdot 10^3$$

IPT_m : IPT obtenido por Jerumanis en matraz

IPT_F : IPT obtenido por el método FIA

A: Absorbancia a 525 nm

El coeficiente y exponente mencionados son el resultado empírico de sopesar la influencia de estos dos factores.

Una buena respuesta es pues la que presenta pequeñas diferencias en el IPT obtenido en matraz y en FIA, así como una mayor altura de pico. La optimización es, por consiguiente, la búsqueda del mínimo de la superficie de respuesta resultante de la función objetivo. Esta búsqueda se lleva a cabo con la ayuda de un microordenador (Apple II) para el cual se ha elaborado el programa correspondiente.

En la Figura 8 se presentan las respuestas obtenidas en el proceso de optimización del método de Jerumanis de determinación del IPT utilizando ácido tánico como patrón. Se puede observar que han bastado 11 experiencias (más las 7 necesarias para la formación del simplex inicial) para obtener un óptimo, el cual presenta mejores resultados que la mejor experiencia obtenida realizando la optimización por el método tradicional y con un número muchísimo menor de experiencias necesarias para alcanzarlo.

En la Tabla III se muestran las características de los resultados que se obtienen en estas condiciones, así como un estudio de la reproducibilidad para determinaciones realizadas durante 15 días. Cabe destacar la gran concordancia con el IPT resultante de la determinación en matraz, la gran velocidad de análisis, la altura de señal obtenida y el bajo consumo de reactivos (40 veces inferior para el NH_3 y 20 para el reactivo férrico, en relación con el ensayo en matraz).

Todo ello demuestra el éxito de la aplicación del Simplex como procedimiento de optimización en la determinación del IPT mediante FIA.

El programa computerizado ya mencionado prevé la posibilidad de interpolar en curva de calibrado no lineal cuando la aproximación lineal presente un valor de r^2 menor de 0,99. Más detalles sobre el mismo pueden ser solicitados a los autores de la presente comunicación.

Cabe por último señalar que las experiencias aquí resumidas se han realizado con un analizador por inyección en flujo totalmente manual (FIastar). Es de prever que un sistema totalmente automatizado proporcionaría unos resultados de mayor reproducibilidad y exactitud.

De todo lo anterior se puede concluir que el Análisis por Inyección en Flujo es una técnica analítica aplicable a la determinación rutinaria de forma totalmente automatizada del IPT en vinos finos, que, proporcionando unos resultados comparables a los obtenidos realizando el ensayo en matraz, permite velocidades de análisis superiores a 200 determinaciones/hora. El método Simplex de optimización permite la puesta a punto del sistema experimental con un número pequeño de experiencias.

Agradecimiento

Queremos manifestar nuestro agradecimiento a Osborne y Cia. por su amabilidad y facilidades en el suministro de las muestras.

BIBLIOGRAFIA

- 1) J. Ruzicka y E. Hansen, "Flow Injection Analysis" Wiley Interscience, 1981
- 2) D. Betteridge, "Flow Injection Analysis", Anal. Chem., Vol. 50, (1978) 8321
- 3) E. Hansen y J. Ruzicka, "Flow Injection Analysis is already a routine tool in Brazil" TrAC, Vol. 2, nº 7, 1983.
- 4) J. Jerumanis, Bull. Anc. Et. Brasserie Louvain, 69(1) (1973) 1-14
- 5) R. Natera, "Estudios sobre la determinación de polifenoles totales en mostos y vinos finos de Jerez", Memoria Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias de Cádiz.
- 6) A.P. Wade, Anal. Proc., Vol. 20, (1983) 108-111
- 7) A.P. Wade, Anal. Proc., Vol. 20, (1983) 523-527
- 8) D.E. Long, Anal. Chim. Acta, 46, (1969) 193-206
- 9) S.L. Morgan y S.N. Deming, Anal. Chem., 46(9) (1974) 1170-1181
- 10) S.M. Deming y U.R. Purker, CRC Crit. Rev. Anal. Chem., 7(3) (1978) 187-202
- 11) B.G.M. Vandeginste, TrAC 1(9), (1982) 210-215
- 12) J.A. Nolder y R. Mead, Compt. J., 7, (1965) 308

TABLA I

Características de flujo y comparación de los valores del IPT obtenidos por FIA y en matraz usando ácido gálico como patrón

Diagrama de flujo: Figura 2B

Longitud helicoide A: 50 cm

Longitud helicoide B: 75 cm

Velocidad de flujo (ambos canales): 1,8 ml/min

Cantidad de muestra inyectada: 60 ul

Curva de calibrado FIA (ácido gálico)

$$a = -1.18$$

$$y = a + bx$$

$$b = 0.122$$

$$r^2 = 0.9911$$

Absorbancia de la muestra de vino: 0.127

IPT (matraz): 124 ppm (GAE)

IPT (FIA) : 66 ppm (GAE)

Concentración de reactivos (relativa al método en matraz): 0.033

Tiempo de residencia: 30 s

Velocidad de análisis: 150 muestras/hora

Valor del RSD (muestras): 1.79%

TABLA II

Valores medios del IPT y RSD (%) de muestras de vino utilizando ácido tánico como patrón

Diagrama de flujo: análogo al de la Tabla I

Velocidad de flujo: 2.2 ml/min (ambos canales)

Volúmen de muestra inyectado: 60 ul

No. muestra		1	2	3	4	5	6
Matraz		136	161	135	121	158	131
FIA	1	116	142	123	103	143	117
	2	115	136	119	91	138	108
	3	112	133	118	92	140	114
	4	109	137	123	95	137	109
	5	116	139	126	98	148	116
	6	114	132	113	95	131	102
	7	115	135	119	98	136	111
media		114	136	120	96	139	111
RSD (%)		2.26	2.53	3.55	4.25	3.90	4.71

TABLA III

Condiciones del óptimo obtenido por Simplex

Diagrama de flujo: Figura 6

Longitud del helicoide: 75 cm

Velocidad de flujo: 2.4 ml/min

Absorbancia del vino: 0.112

IPT (matraz): 131 ppm TAE

IPT (FIA) : 126 ppm TAE

Error relativo: 3.8%

Tiempo de residencia: 26 s

Velocidad de análisis: 200 determinaciones/hora

Consumo de reactivos:

Reactivo férrico: 4.8 ml/h (equivalente a 10 det. matraz)

Amoníaco 1/3 : 2.6 ml/h (equivalente a 5 det. matraz)

Estudio de la reproducibilidad (durante 15 días):

Ensayo	Absorb. vino	ppm (TAE)	respuesta F. objetivo	r^2
1	0.112	129	-109	0.9988
2	0.126	127	-118	0.9920
3	0.123	131	-123	0.9930
4	0.128	130	-127	0.9840
5	0.128	121	-96	0.9944
6	0.125	125	-111	0.9992
7	0.127	120	-90	0.9953
Valor medio: 126 ppm TAE				
Reproducibilidad: RSD = 3.4%				

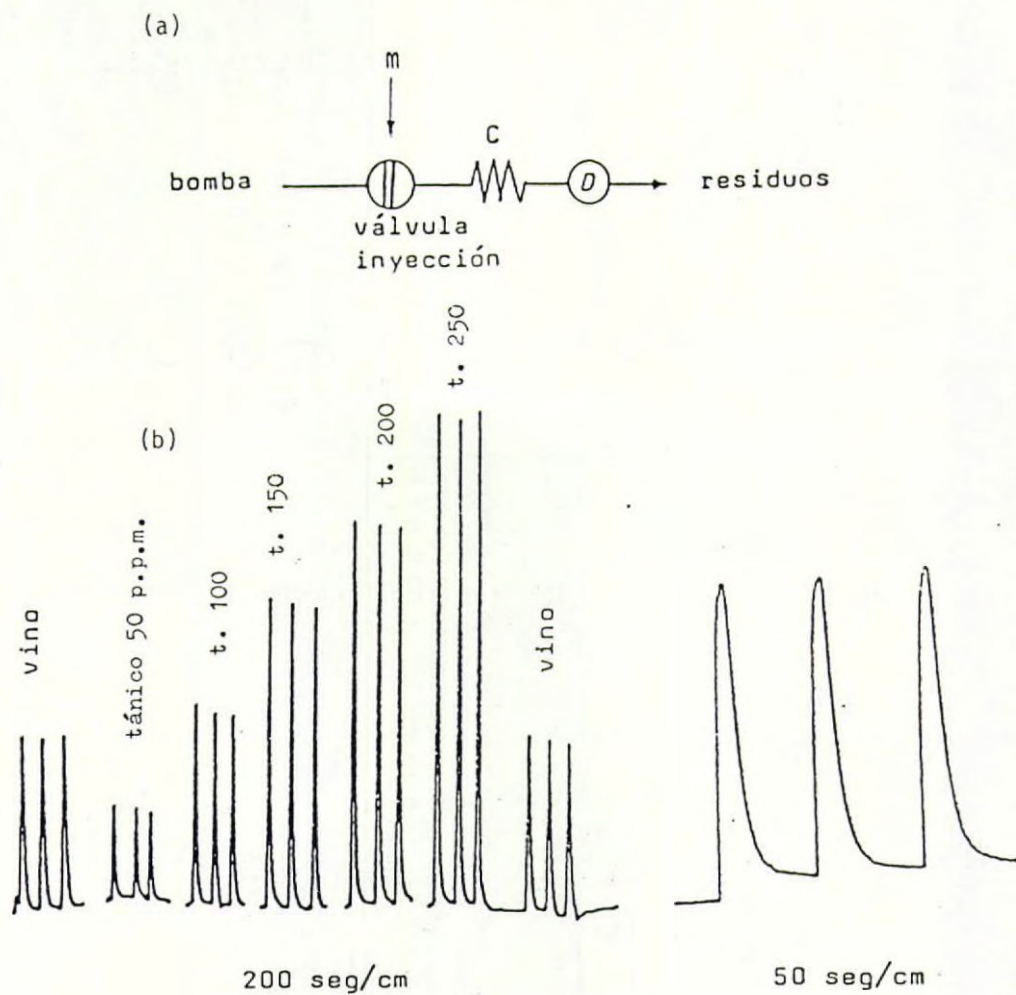
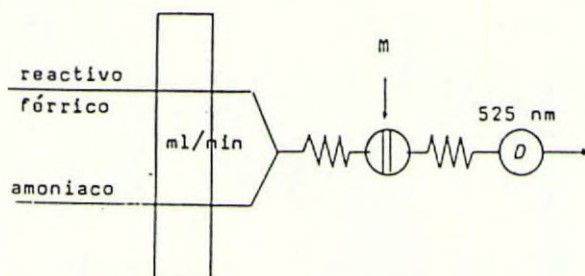


Figura 1. (a) Diagrama básico de flujo de un sistema FIA. (b) Señales obtenidas (fiagramas) utilizando un detector fotométrico a dos velocidades diferentes de carta.

DISEÑO



DISEÑO B

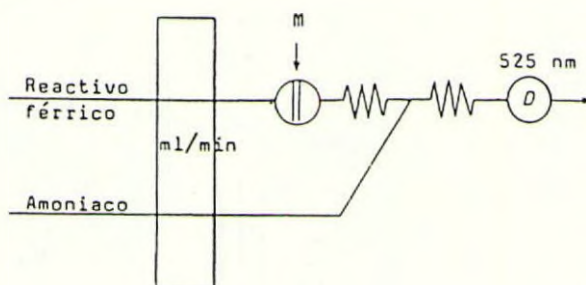


Figura 2. Diagramas de flujo ensayados experimentalmente

ac. tánico 150 ppm

vino

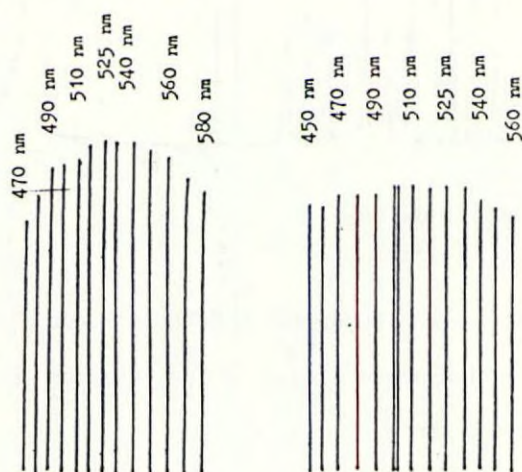


Figura 3. Elección de la longitud de onda óptima de medida

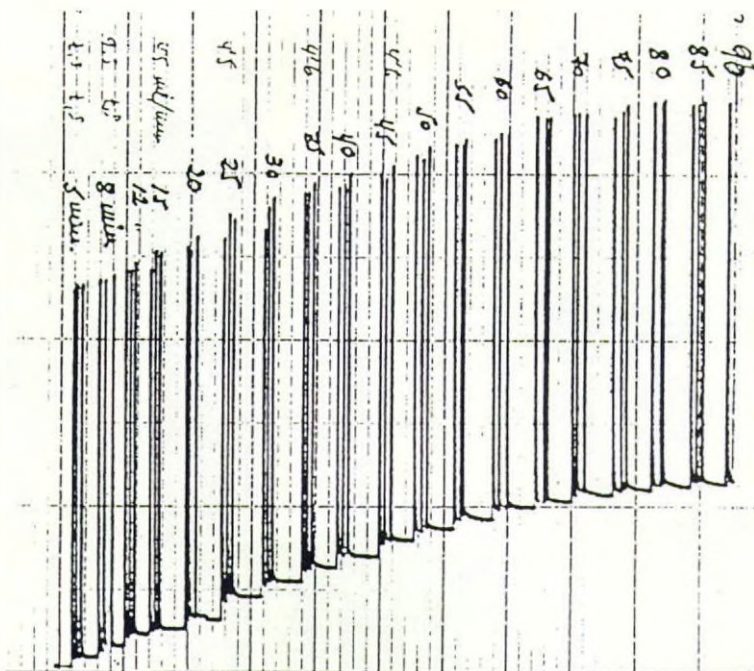


Figura 4a. Inyección ininterrumpida de muestra durante 90 minutos

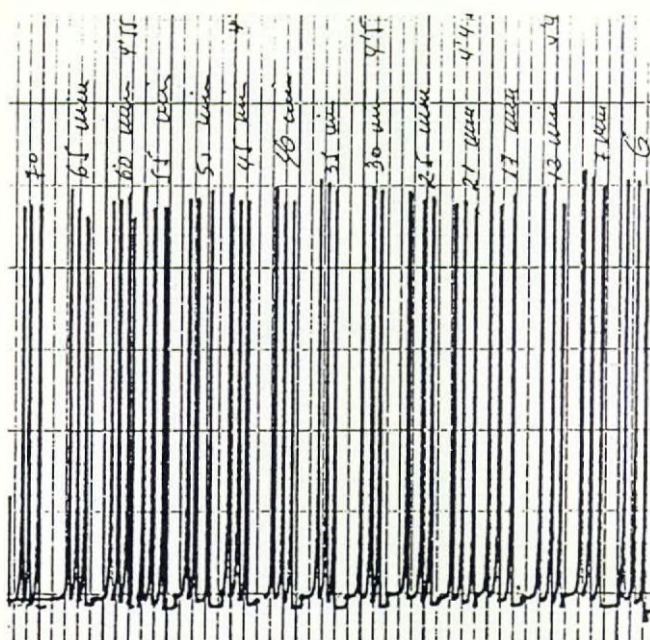


Figura 4b. Inyección de muestra (70 minutos) incluyendo ciclo de la vado

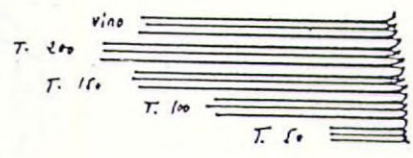
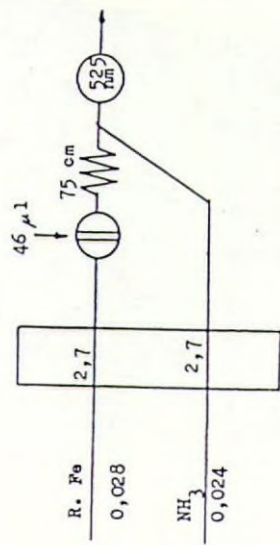
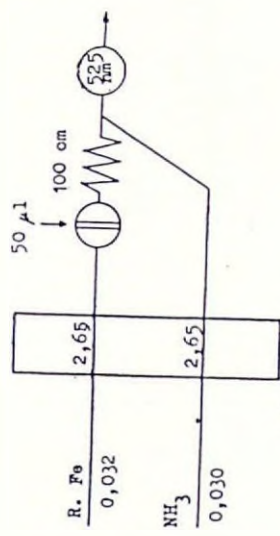


Figura 6. Influencia de las diferentes variables experimentales sobre la señal obtenida y el IPI para un diagrama de flujo dado

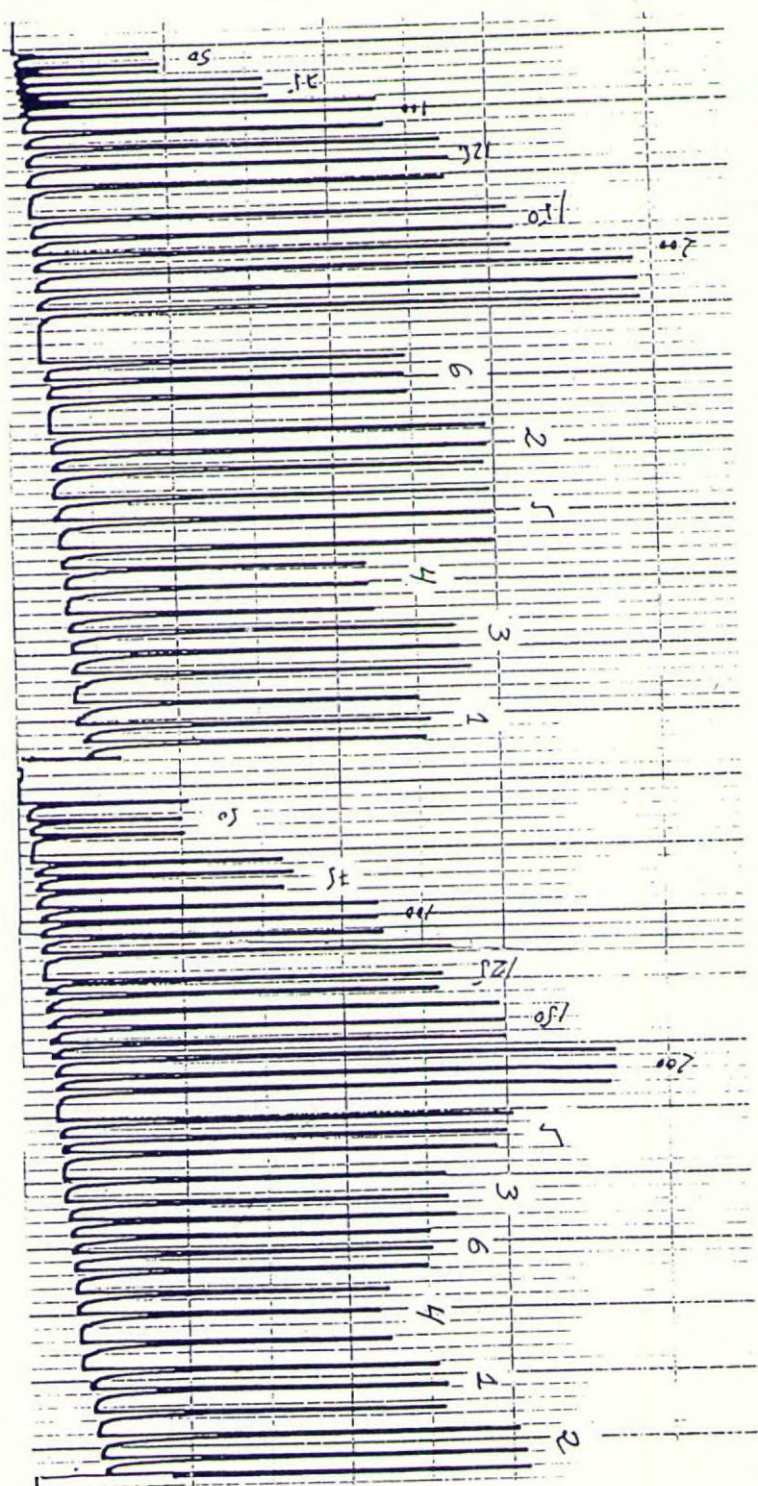


Figura 7. Gráficas FIA de la evaluación del IPT en seis muestras de vino (1 a 6) utilizando tánico como patrón (50 a 200 ppm). En la segunda experiencia se ha variado el orden de inyección de las muestras de vino.

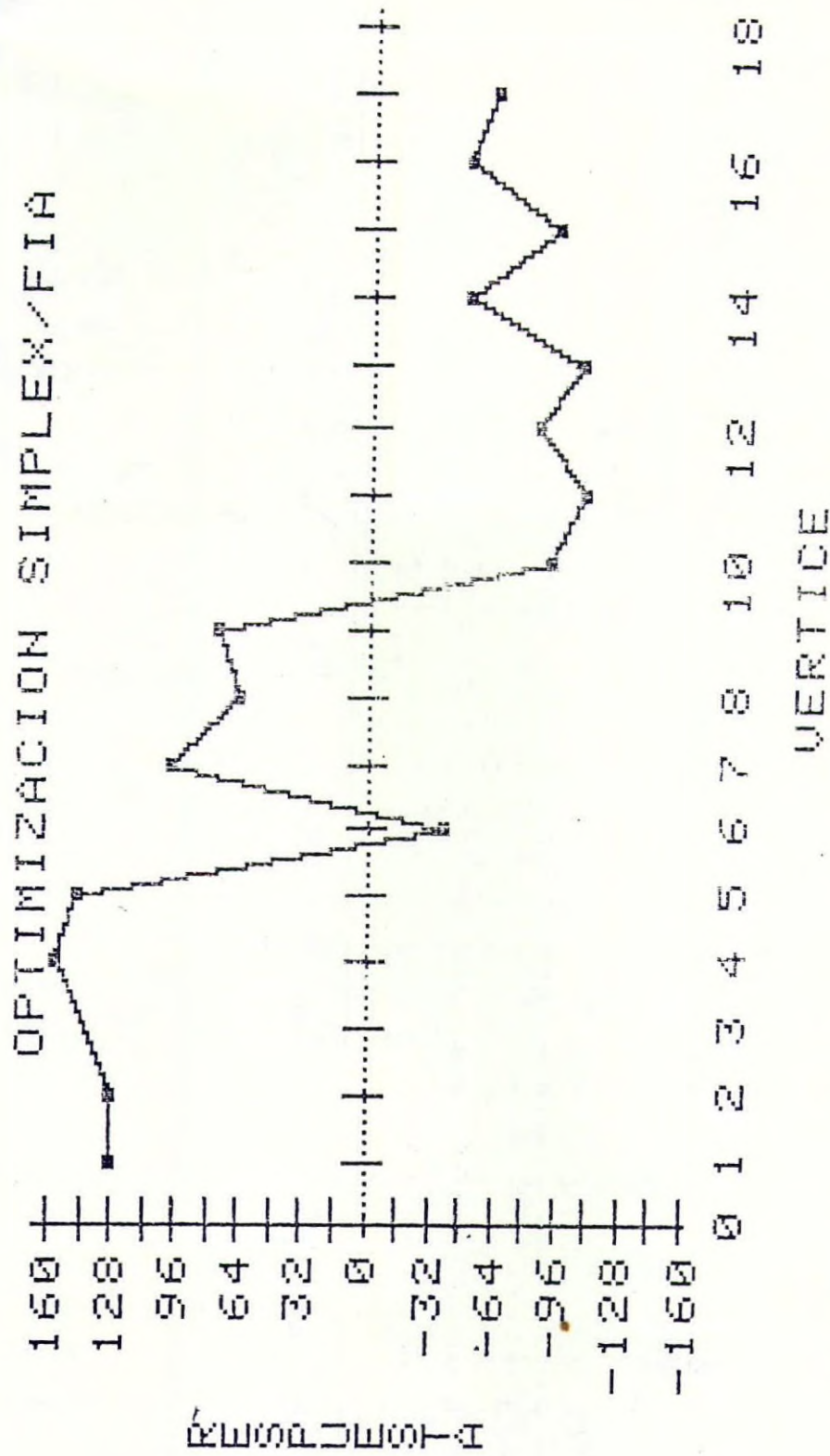


Figura 8. Respuestas obtenidas en el proceso de optimización por el método Simplex de las diferentes variables experimentales FIA

"SEPARACION DE ACIDOS Y ALDEHIDOS FENOLICOS DEL VINO MEDIANTE CROMATOGRAFIA DE PERMEACION DE GEL".

J.C.Otero, R.Cela, Carmelo G. Barroso, J.A.Pérez-Bustamante.

Dpto. Química Analítica. Facultad de Ciencias de Cádiz.

RESUMEN.

Se presenta un estudio de fraccionamiento de ácidos y aldehidos fenólicos por cromatografía de permeación de gel (GPC), identificándose las bandas obtenidas por espectrofotometría UV-visisble, cromatografía de capa fina y sobre todo, mediante la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). El fraccionamiento mediante GPC de las muestras de vino permite separar en grupos o familias que posteriormente se obtienen cromatogramas mediante HPLC, mucho más sencillos para la identificación y cuantificación de dichas especies.

INTRODUCCION.

El estudio de la separación de los ácidos y aldehidos fenólicos que aquí se presenta están incluido dentro dentro de un estudio más general acerca de los compuestos polifenólicos de interés enológico. El interés de este estudio viene dado por la importancia que tienen los compuestos polifenólicos en la mayoría de los procesos enológicos tanto favorables como desfavorables para el vino, y muy especialmente en el proceso denominado "remontado" cuasante de graves pérdidas de calidad en los vinos finos de Jerez y consecuentemente de importantes perjuicios económicos para la zona productora.

Además los compuestos polifenólicos juegan un papel importante en las características organolépticas del vino y de ahí la importancia de su estudio y control analítico en Enología.

La complejidad de las muestras de vino es tal que incluso con técnicas analíticamente tan potentes como la HPLC o la TLC no resulta posible una asignación fiable de la identidad de las distintas especies presentes

en la muestra. Esta misma complejidad y el consiguiente solapamiento de picos que se observa al intentar analizar muestras directamente mediante HPLC, incluso mediante procedimientos de gradientes muy elaborados, no permiten con mucha fiabilidad la medida de altura o áreas de picos para algunas sustancias de interés.

Todo esto hace en la práctica el ensayar fraccionamientos previos de los compuestos polifenólicos en grupos o familias y como consecuencia obtener cromatogramas mucho más sencillos en los cuales la identificación y cuantificación de estas especies sea más fiable y poder seguir así su evolución a lo largo de las distintas etapas de vinificación.

Esta es una necesidad generalmetne aceptada, y en este sentido son diversas las propuestas de la bibliografía. Se observa no obstante una falta de estudios sistemáticos, y no solo en caso de los vinos de Jerez, que permitan establecer hasta que punto son válidas estas propuestas. En general la bibliografía parece idealizar el sistema. A veces los medios utilizados para para el control del fraccionamiento son desde un punto de vista cuantitativo "bastante rudimentarios", y de hecho muchas de las afirmaciones de la bibliografía solo pueden ser aceptadas con rigor desde un punto de vista cualitativo.

Un intento de esclarecer este panorama es la linea investigadora mencionada anteriormente y en la cual se enmarca este trabajo. Una de las propuestas de la bibliografía para el fraccionamiento de los compuestos polifenólicos es la cromatografía de permeación de geles (1,2,3). En base a los resultados de la bibliografía eran previsibles unos buenos resultados aunque no existe concordancia entre los datos y conclusiones aportadas por diferentes autores.

MATERIAL Y METODOS.

En el presente trabajo se han utilizado tres tipos de geles como fases estacionarias (Sephadex G-25, G-10 y LH-20). Las fases móviles utilizadas han sido mezclas metanol-agua con proporciones variables de metanol que van desde 0 a 40%, en todos los casos estas mezclas estaban acidi-

ficadas con ac. AcH 3%. Las condiciones de trabajo fueron puestas a punto en base a resultados obtenidos en trabajos anteriores publicados por los autores tanto en GPC (4) como en HPLC (5).

Las dimensiones de la columna en todos los casos ha sido 1.5 x 50 cms., las muestras (extractos y patrones) depositadas en cabeza de columna fueron eluidas a 1 ml/min., aunque este flujo se cambió en algunas experiencias. Se recogieron fracciones de 3 a 6 ml. las cuales fueron registradas a 280 y 340 nm. En algunas experiencias se obtuvo la curva de elución mediante el registro en continuo de la absorbancia gracias al uso de una célula de flujo continuo, intercala en el espectrofotómetro de doble haz Pye-Unicam SP8-200. La identificación de las bandas obtenidas se realizó concentrando éstas y registrando sus espectros UV-visible, realizando cromatografía de capa fina y sobre todo, se inyectaban en el cromatógrafo de líquidos sometiéndose a las condiciones de elución descritas en los trabajos de los autores mencionados (4,5).

RESULTADOS Y DISCUSION.

La optimización del método tiene dos partes, la selección de la mejor fase estacionaria y de la fase móvil óptima para cada una de las fases estacionarias, las cuales no tienen por qué coincidir. Dentro de una misma fase estacionaria se hacen experiencias con las distintas fases móviles hasta llegar a la que conduzca a un mayor número de bandas y que la resolución entre las mismas sea máxima. Para este estudio se inyectan primero mezclas de ácidos o de aldehídos y posteriormente la mezcla de ambos. Este proceso se repite para otras fases estacionarias y de entre ellas se selecciona la que da mejores resultados.

Otro factor a tener en cuenta es el tiempo de elución ya que hay que diferenciar entre las ventajas e inconvenientes que produce mejorar la resolución a costa de aumentar enormemente el tiempo de elución.

Como ya se ha mencionado, el criterio seguido para decidir si una elución es mejor o peor, es el número de bandas obtenidas, aplicando este criterio se observa una influencia del % de metanol en la fase móvil.

Así en la elución de la mezcla de aldehidos sobre G-25, se tiene que el número de bandas no depende del % de metanol en el eluyente ya que tanto con un 40% (Fig.1a) como con un 0% (Fig.1b) de metanol se obtiene una única banda. En el caso de la elución de la mezcla de ácidos se observa que se pasa de obtener dos bandas con un 40% (Fig.2a) a cinco bandas con un 0% (Fig.2b).

En el caso de la elución sobre G-10 de los aldehidos, se pasa de una banda con 40% (Fig.3a) a dos bandas con 0% (Fig.3b) de metanol. En el caso de los ácidos sobre esta misma fase estacionaria no hay influencia sobre el número de bandas ya que tanto con un 20% (Fig.4a) como un 0% (Fig.4b), se obtienen tres banadas, no obstante en el caso de la elución con 0% de metanol, la resolución de estas tres bandas es mucho mejor.

Sobre LH-20, el efecto es contrario al observado en los casos anteriores ya que se pasa de cinco bandas con un 0% (Fig.5b) de metanol a diez bandas con un 20% (Fig.5a). Esto es fácilmente justificable teniendo en cuenta que el LH-20 es un gel lipófilo sobre el cual la incorporación de un modificador orgánico a la fase móvil tiene el efecto de eluir sustancias fuertemente retenidas por la fase estacionaria, así como un estrechamiento de las bandas de elución individuales para las sustancias bajo estudio lo que produce una mejor separación global.

Otro hecho a destacar es el diferente comportamiento de los compuestos polifenólicos cuando se eluyen los ácidos por separado y cuando lo hacen en mezcla con los aldehidos. Así en el caso del G-25 se observó un empeoramiento general de la separación de los ácidos cuando son eluidos en mezcla con los aldehidos, suponiéndose que esto es debido a un efecto de arrastre de los ácidos por parte de los aldehidos. En el caso del G-10, el efecto no es generalizado como en el caso anterior, sino sobre algunos ácidos como son el gentísico y γ -resorcílico que disminuyen su volumen de elución. Sobre el LH-20 se produce un efecto similar al anterior pero en este caso sobre otras especies, como son los ácidos protocatéquico y α -resorcílico que disminuyen su volumen de elución y los ácidos o-cumárico, 3,4,5-trimetoxicinámico y 3,5-dimetoxibenzoico que aumentan su volumen.

De los hechos destacados anteriormente y teniendo en cuenta la forma general de las curvas de elución, que en su mayoría poseen colas bastante intensas, se puede concluir que el mecanismo de la separación no puede considerarse exclusivamente como de exclusión molecular, sino que debe tener un fuerte componente de adsorción o de reparto, o de ambos a la vez. Aceptando esta hipótesis es fácil justificar la influencia del porcentaje de metanol en el número de bandas obtenidas.

La discusión de la elección de fase móvil óptima para cada fase estacionaria, se hace en base a los resultados obtenidos de la elución de una mezcla de ácidos y aldehidos.

Para el Sephadex G-25, la fase móvil seleccionada como óptima fué una disolución de ac. AcH al 3% en agua, en estas condiciones se obtuvo la curva de elución reproducida en la Fig.6. Del análisis cualitativo de las bandas, se puede pensar en la separación de dos grupos, uno compuesto por las bandas I y II, en el que están incluidos los aldehidos y otro, formado por las bandas IV y V, en el que están incluidos los ácidos, eluyéndose en la banda III una mezcla de ácidos y aldehidos.

En el caso del LH-20, hay que tener en cuenta que el mayor número de bandas se obtiene con una cierta cantidad de metanol en el eluyente y por tanto se procedió a la optimización de esta cantidad. Se estudiaron las cantidades de 10, 20 y 30% en metanol, representándose en la Fig.7 las curvas obtenidas. Con un 30% se observa una pérdida de resolución en la primera parte de la curva, que es la única que se ha reproducido, y en esta pérdida de resolución al no ser compensada con la disminución del tiempo de elución, se decidió por ello rechazar esta proporción. Con un 10% se obtiene una mejora nptable de la última parte del cromatograma pero a costa de un gran aumento del tiempo de elución, y teniendo en cuenta que con un 20% se obtiene una separación bastante buena en esa zona, se decidió tomar como cantidad óptima, el 20% de metanol.

Respecto a los resultados obtenidos con muestras de vino, en la Fig.8 se representan las distintas curvas de elución obtenidas con las fases estacionarias estudiadas. Se observa como el mayor número de bandas y la mejor resolución se obtiene con el Sephadex LH-20.

Con el G-25 se obtiene una curva muy similar a la obtenida en una elución de la mezcla de ácidos y aldehídos en las mismas condiciones, lo cual hace pensar que se ha producido una separación similar a la de aquel caso. Pero cuando se realiza el análisis cualitativo de las bandas, los cromatogramas de HPLC demuestran que la complejidad de los cromatogramas obtenidos es similar a la que se obtiene inyectando directamente las muestras en el cromatógrafo, como se puede apreciar en la Fig.9. Por tanto nos encontramos en una situación similar a la descrita anteriormente y de la misma forma se decidió deshechar esta fase estacionaria.

La curva obtenida con el Sephadex G-10, véase Fig.8, extraña en primer lugar la aparición de las dos primeras bandas de la curva a volúmenes de elución muy bajos en relación a los obtenidos con patrones, pero hay que tener en cuenta que dentro de un extracto etéreo no todas las sustancias son polifenólicas y dentro de ellas no todas son ácidos o aldehídos. De hecho las sustancias polimerizadas del vino (taninos) deben aparecer en las inmediaciones del límite de exclusión, si no hay interacción con la fase estacionaria. Cuando se realiza el análisis cualitativo de las bandas, lo primero que hay que destacar (Fig.10) es que se ha conseguido una notable simplificación de los cromatogramas de HPLC en relación con los obtenidos anteriormente, a pesar de esto los cromatogramas siguen siendo bastante complejos y por tanto su identificación es difícil y poco segura. El método seguido para la asignación de picos fue intentar identificar las sustancias bajo estudio en las bandas IV, V y VI, por ser éstas las que coinciden con los volúmenes de elución obtenidos para patrones, así se detectaron:

Banda IV: 2,6-dimetoxibenzoico

" V: p-cumárico, o-cumárico, sinápico y vanillina.

" VI: p-cumárico, o-cumárico y sinápico

Estas asignaciones se intentaron confirmar con los datos de capa fina y así se confirmó la presencia de ácido m-cumárico en las bandas V y VI y en base a estos datos parece detectarse la presencia en la banda V de los ácidos ferúlico y 3,4,5-trimetoxicinámico.

Cuando se pasó la muestra de vino sobre el Sephadex LH-20, se observó la presencia de ocho bandas, como puede apreciarse en la Fig.8. Cuando se realizó el análisis cualitativo la primera conclusión fué que se consiguieron cromatogramas suficientemente sencillos que permiten una asignación relativamente fácil de bastantes especies. Así las sustancias detectadas han sido: (Fig.11)

Banda II: protocatéquico, p-hidroxibenzoico y γ -resorcílico.

" III: protocatéquico, p-hidroxibenzoico, γ -resorcílico y siríngico

" IV: p-hidroxibenzoico, γ -resorcílico y siríngico.

" V: β -resorcílico, vanílicico, siríngico y p-cumárico.

" VI: gálico y ferúlico.

" VII: cafeico, p-cumárico, o-cumárico, 3,4,5-trimetoxicinámico y 3,5-dimetoxibenzoico.

" VIII: cafeico.

Estas asignaciones han sido confirmadas por el método de adiciones y en base a los datos de capa fina que han permitido la confirmación en la identificación de los ácidos γ -resorcílico en la banda III, vanílicico en la banda V y cafeico en la VIII.

Como resumen de esta elución se ha representado la altura de pico frente al volumen de elución para cada una de las especies, lo que nos da una idea de la separación individual de cada una de las especies (Fig.12). En dicha gráfica se pueden diferenciar varios grupos:

I.- protocatéquico y verátrico

II.- siríngico, γ -resorcílico, vanílicico y β -resorcílico

III.- gálico y ferúlico

IV.- cafeico, o-cumárico, 3,4,5-trimetoxicinámico y 3,5-dimetoxibenzoico

El p-cumárico aparece en tres zonas sin ser el componente principal de ninguna de ellas.

Como conclusión se puede decir que en alguna medida el objetivo del trabajo se ha conseguido, puesto que se han logrado cromatogramas suficientemente sencillos como para identificar un elevado número de especies, así

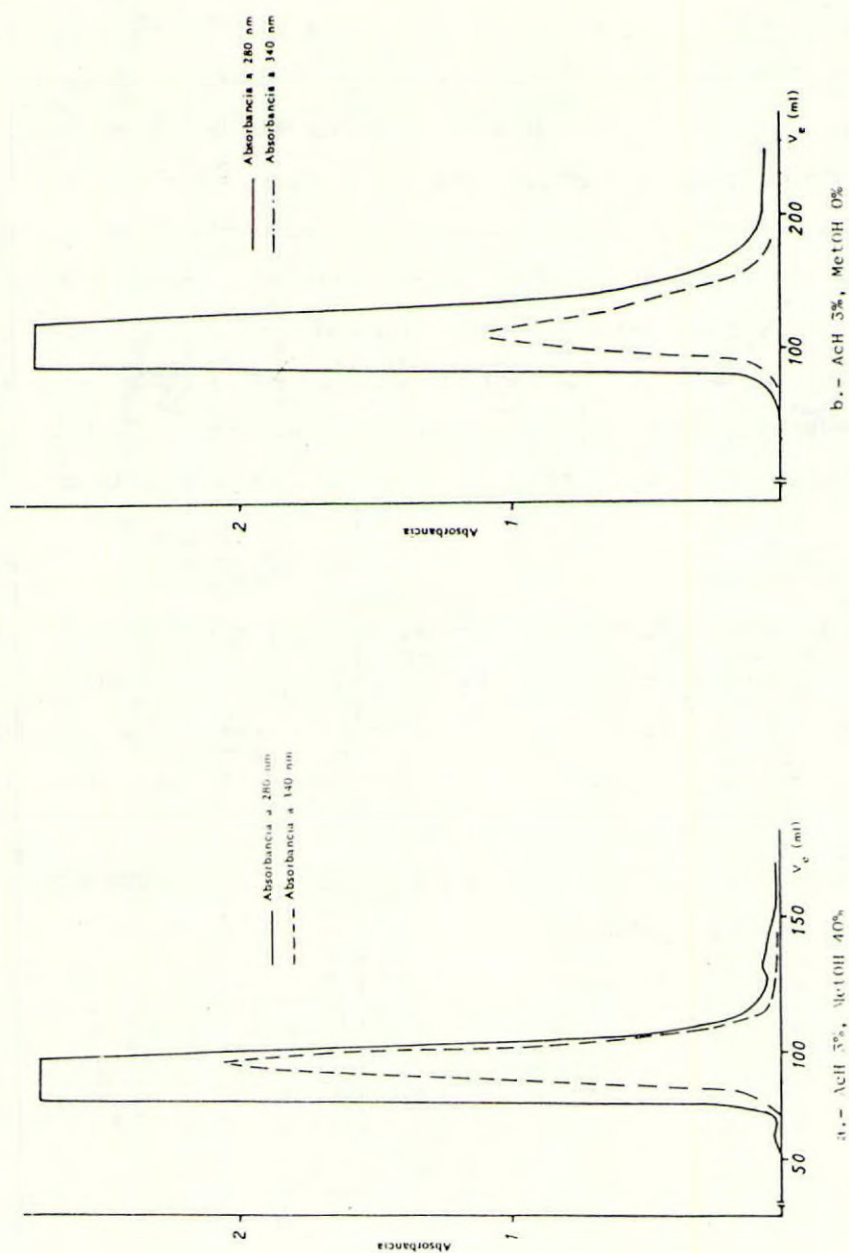
como, poder seguir su evolución, sin que otros picos interfieran por solapamiento. No obstante, esta situación no permite una cuantificación adecuada de la mayoría de las especies, puesto que en muchos casos éstas se distribuyen a lo largo de la elución en demasiada extensión como para asegurar la cuantitatividad de la recolección de las fracciones.

Se puede pues resumir que es posible la separación de los compuestos bajo estudio sobre Sephadex LH-20, fundamentalmente con fines cualitativos y semicuantitativos. Por el contrario no es satisfactoria la separación sobre geles hidrófilos independientemente del tamaño de partícula y límite de exclusión considerados. En este sentido los resultados del presente estudio han venido a demostrar la falta de fiabilidad de diversos procedimientos analíticos propuestos por la bibliografía enológica.

BIBLIOGRAFIA.

- (1).- Y.Glories; P.Ribereau-Gayon; Conn. Vigne Vin.,7, (1), 15 (1973).
- (2).- M.Castino; R. Di Stefano; Riv. Vit. Enol.,7, 290 (1976).
- (3).- R. Nickenig; K.Pleilsticker; Deutsche Leben. Rund.,76, (4), 115 (1980).
- (4).- Carmelo G. Barroso; R.Cela; J.A.Pérez-Bustamante; II Jornadas Universitarias sobre el Jerez, Mayo, Cádiz, 1982.
- (5).- C. García Barroso; R.Cela Torrijos; J.A.Pérez-Bustamante; Chromatographia, 17, 249 (1983).

Fig.1 Elución de mezcla de aldehídos sobre sephadex G-25



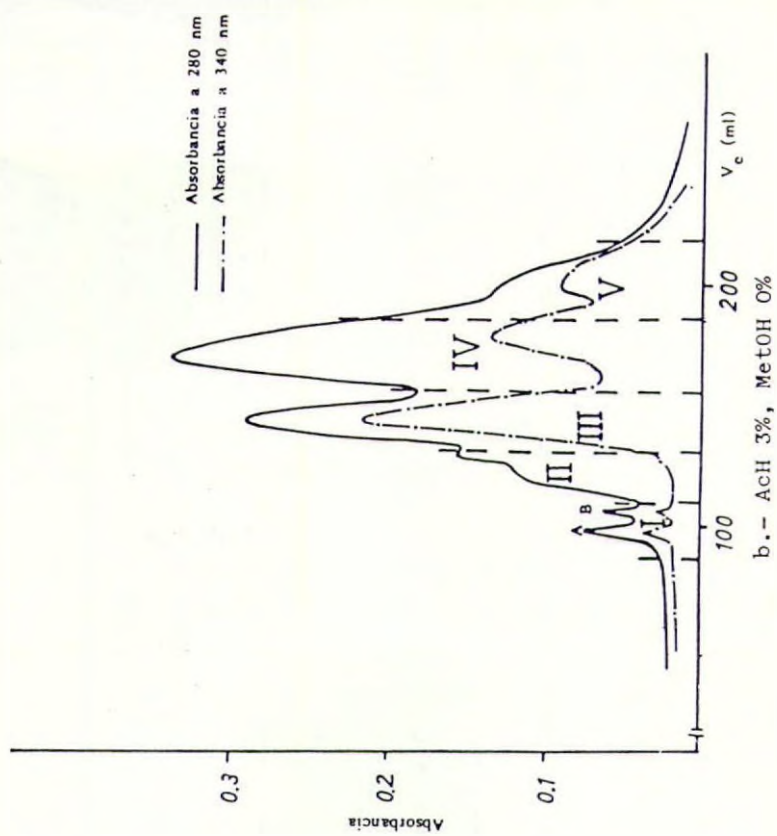
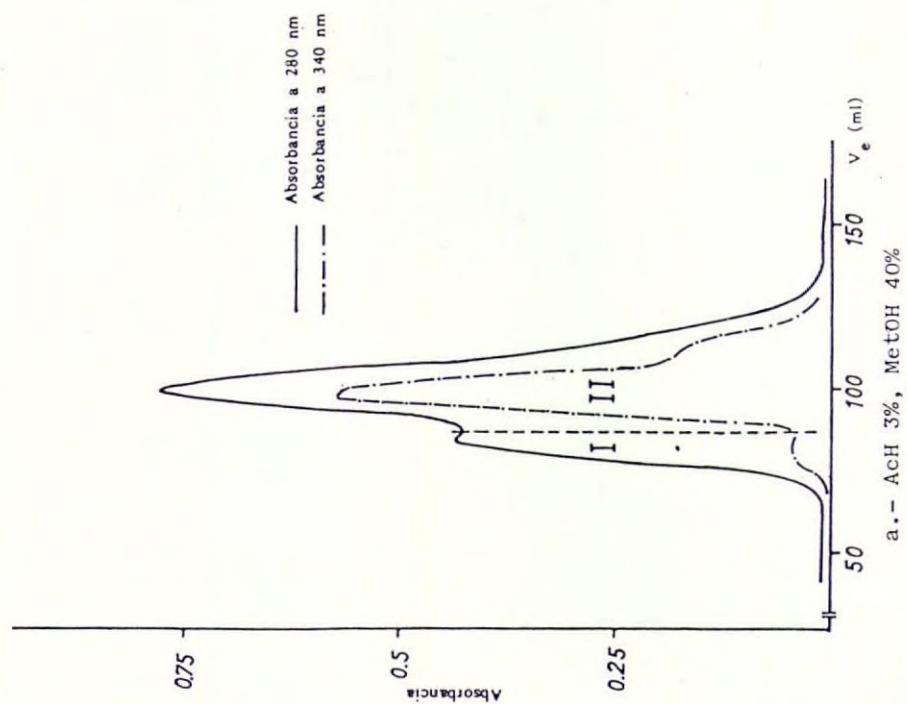


Fig.2 Elución de mezcla de ácidos sobre Sephadex G-25

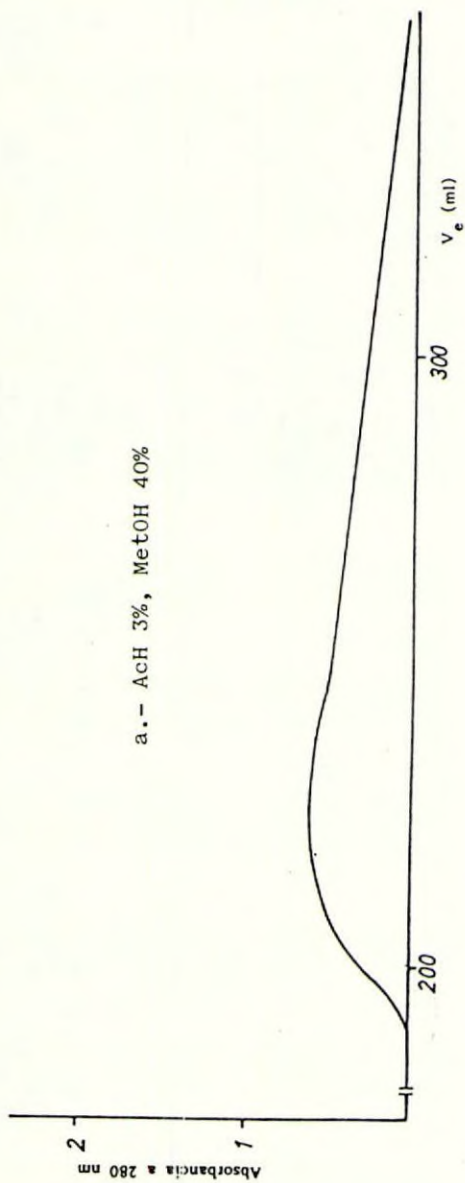
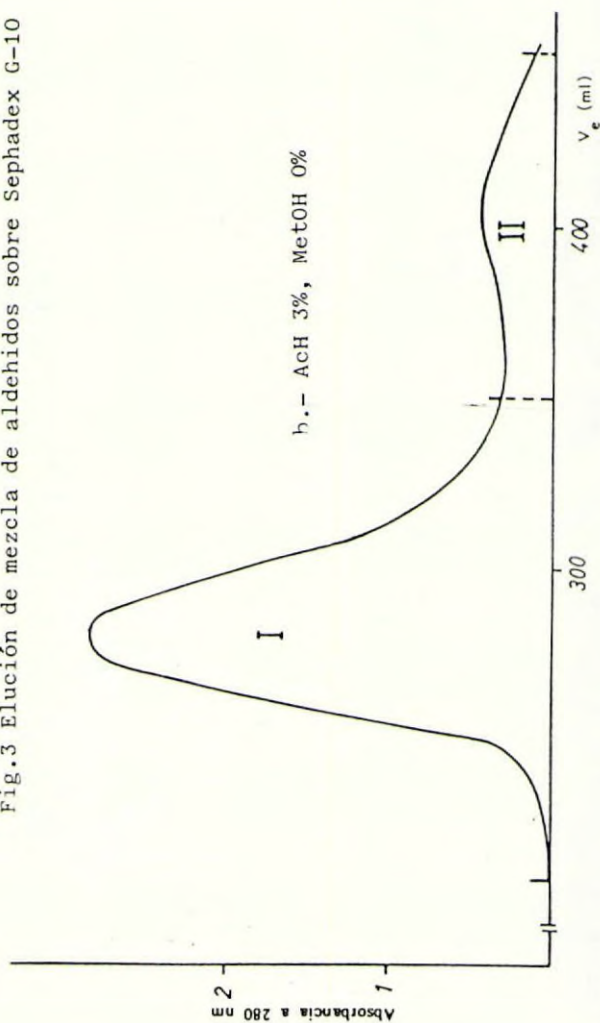


Fig.3 Elución de mezcla de aldehídos sobre Sephadex G-10



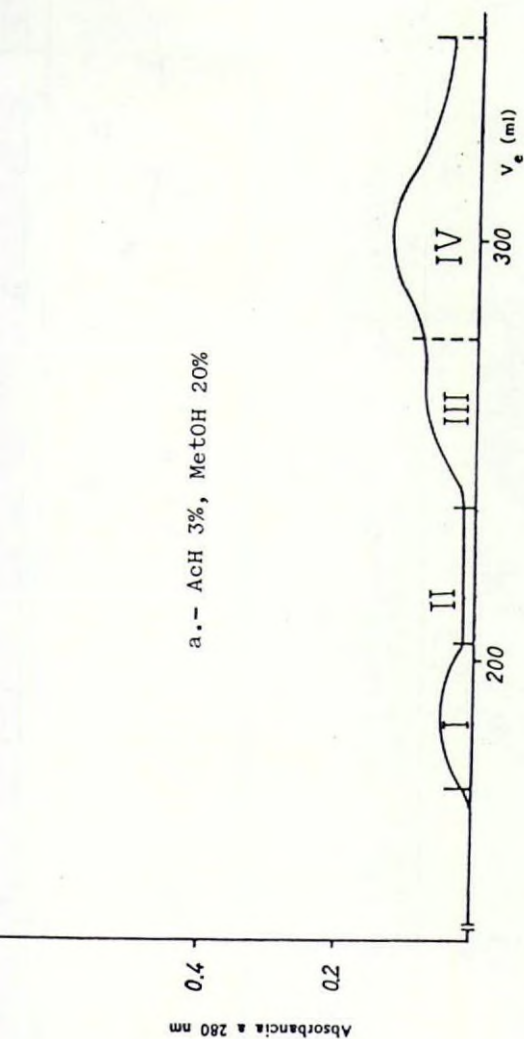
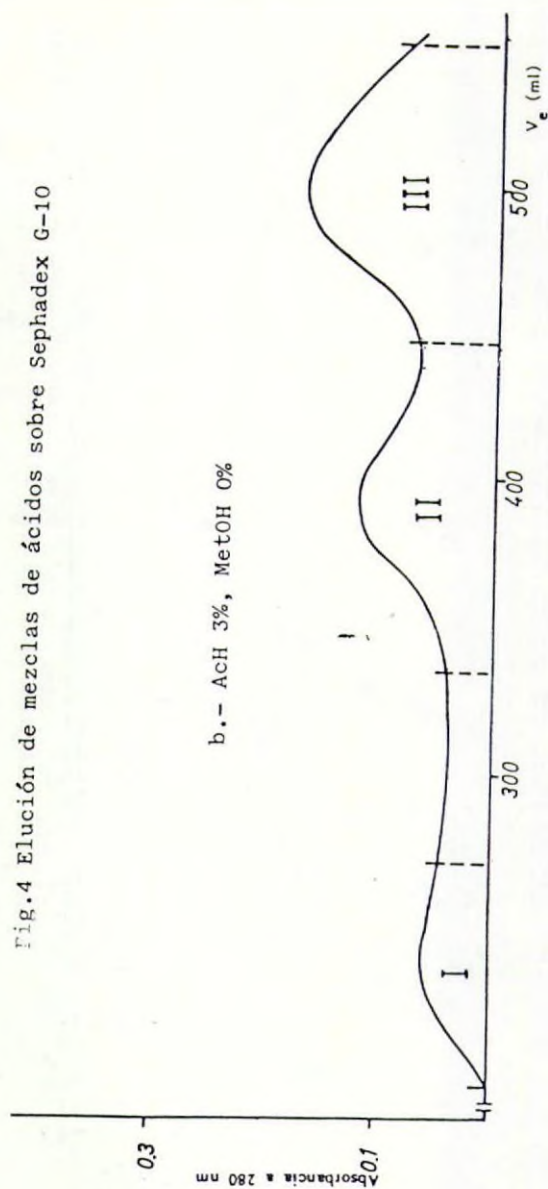


Fig.4 Elución de mezclas de ácidos sobre Sephadex G-10



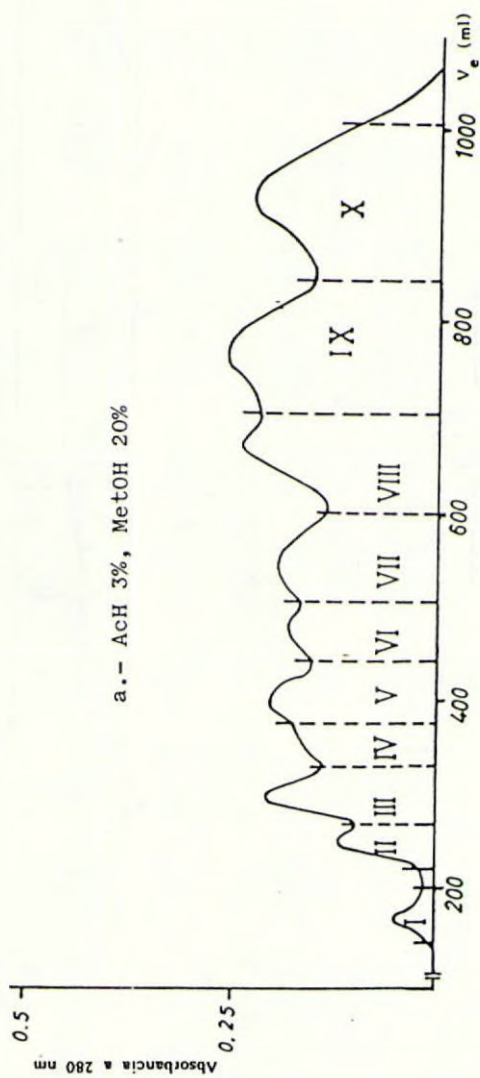
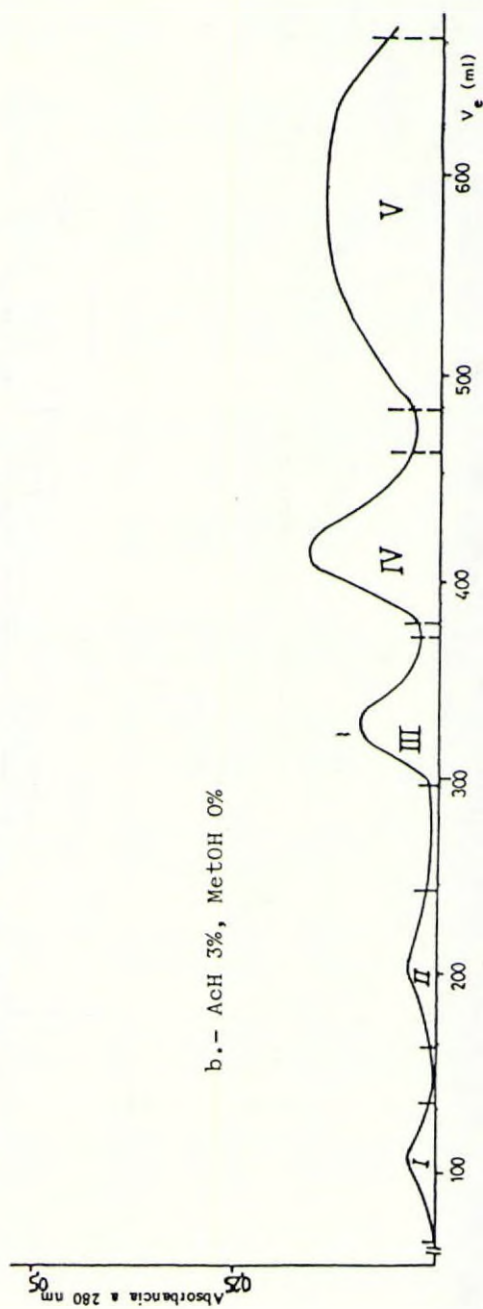


Fig.5 Elución de mezcla de ácidos sobre Sephadex LH-20



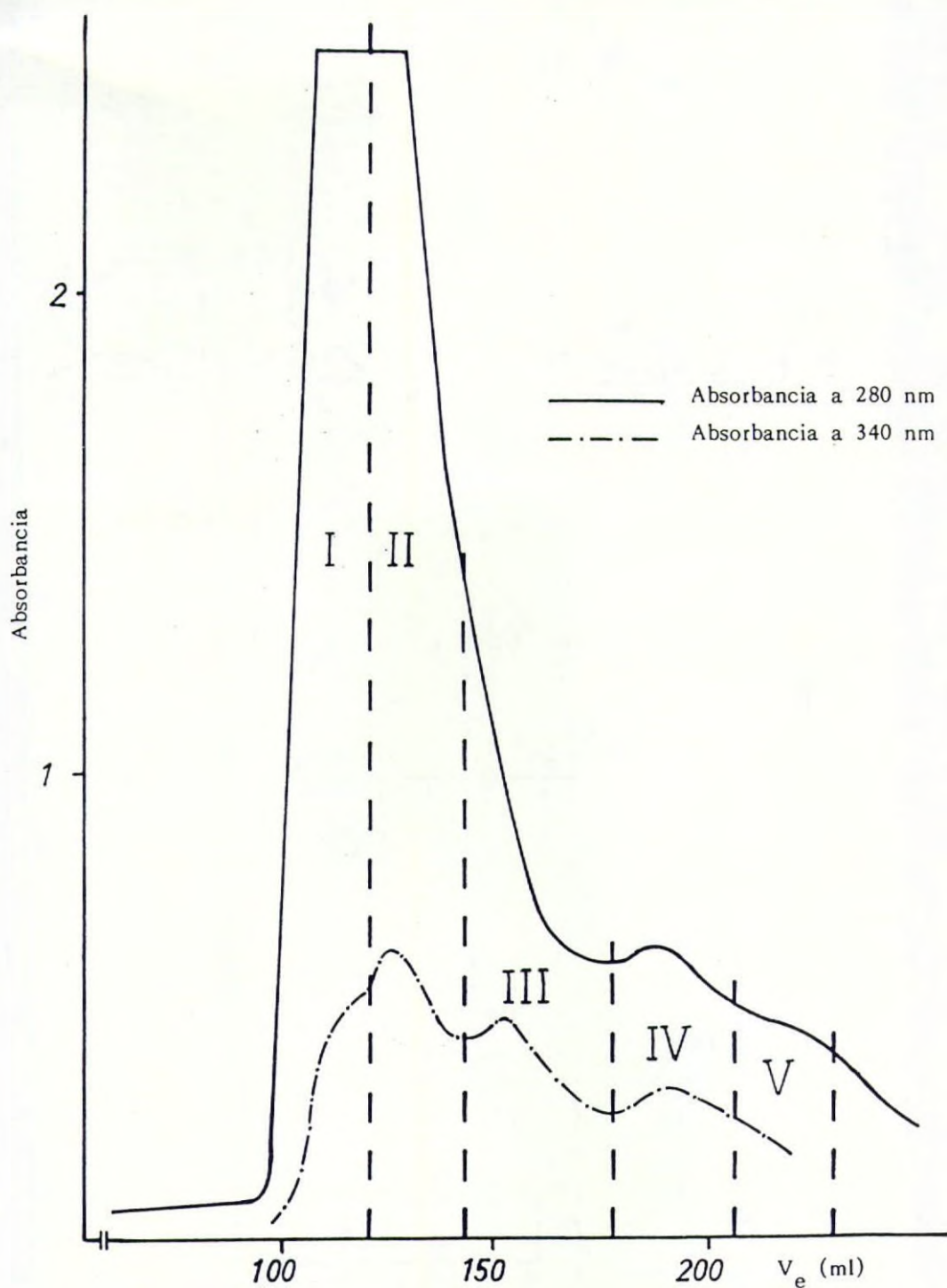


Fig.6 Elución de mezcla de ácidos y aldehidos sobre Sephadex G-25 con AcH 3%

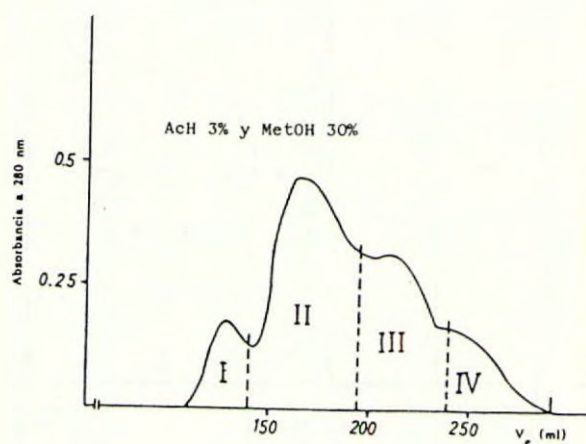
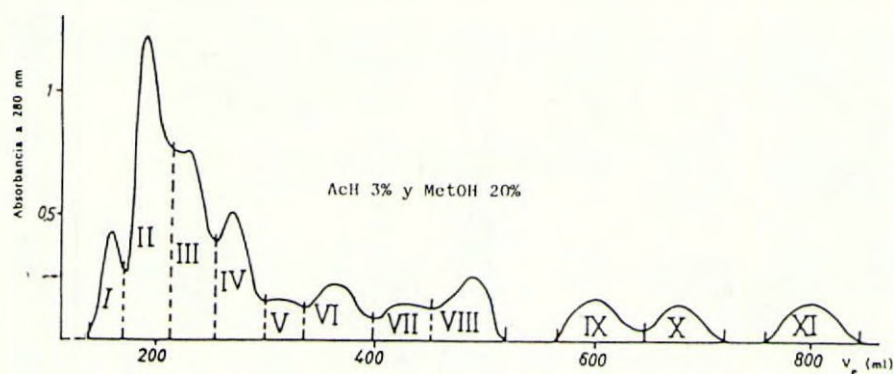
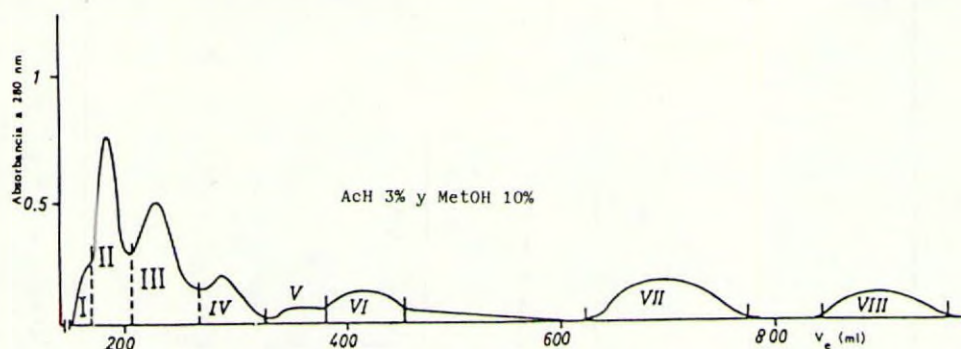


Fig.7 Elución de mezcla de ácidos y aldehídos sobre Sephadex LH-20

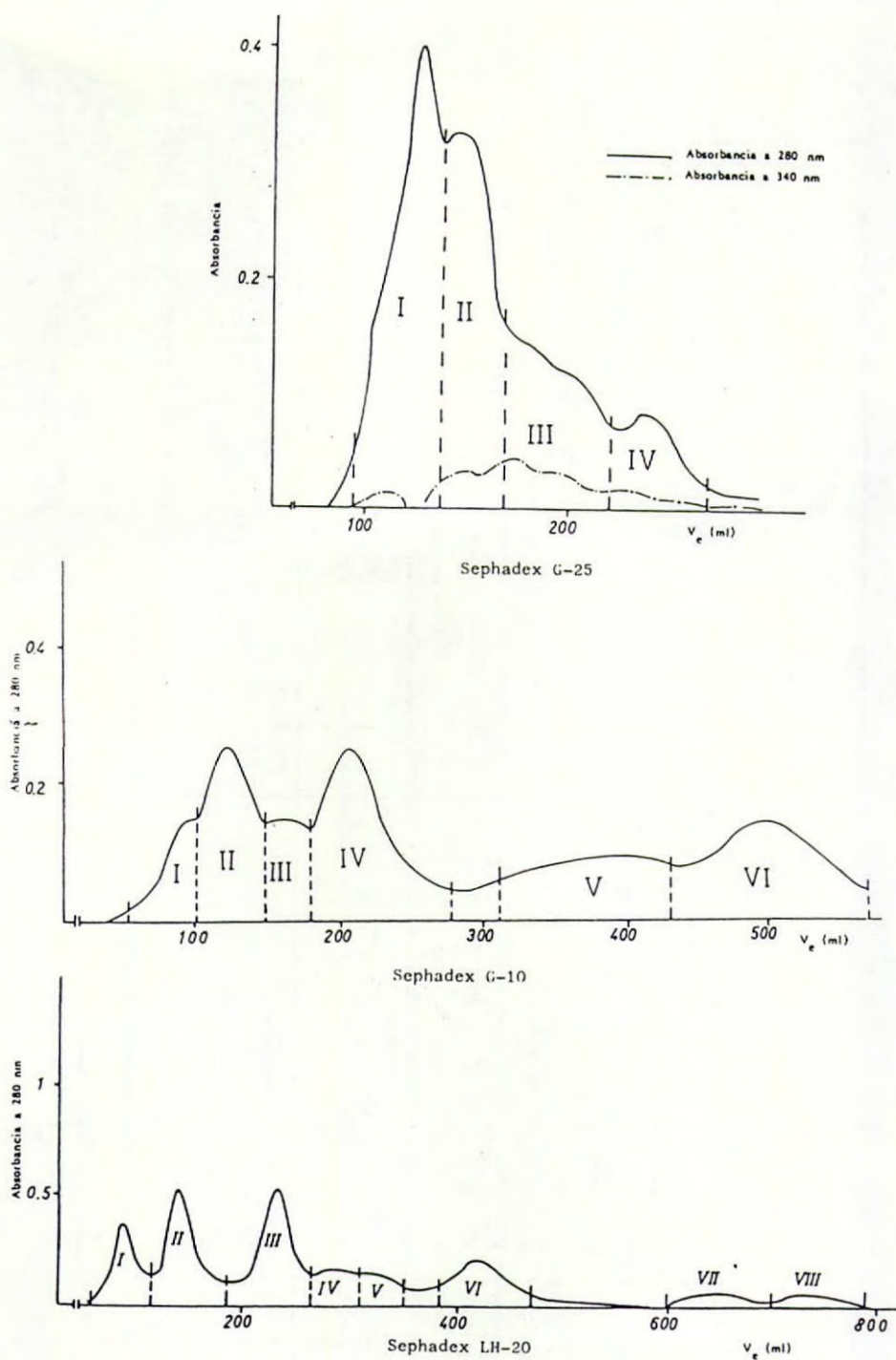
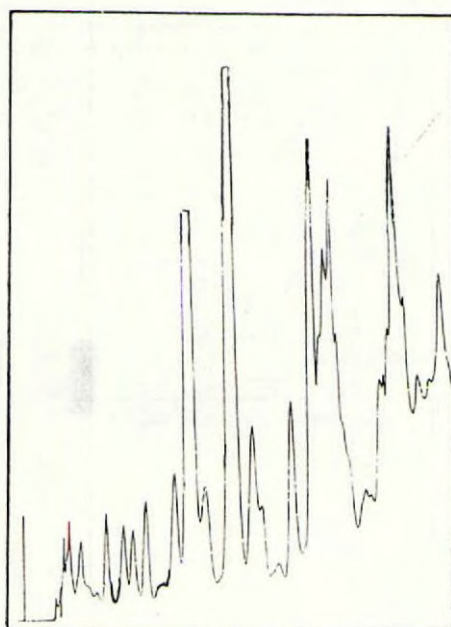
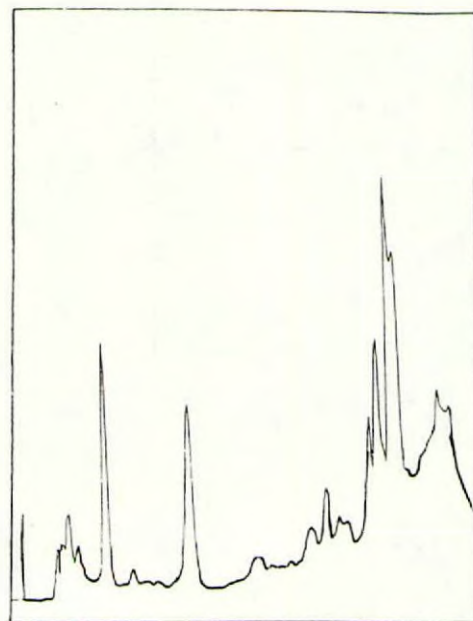


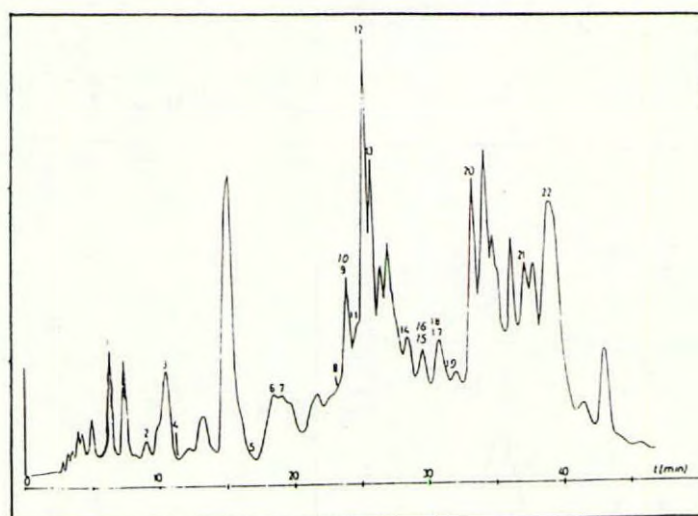
Fig.8 Elución de un extracto etéreo de vino



Banda 1



Banda 11



Extracto etéreo de un vino

Fig.9 Análisis cualitativo de las bandas obtenidas de un vino sobre Sephadex G-25

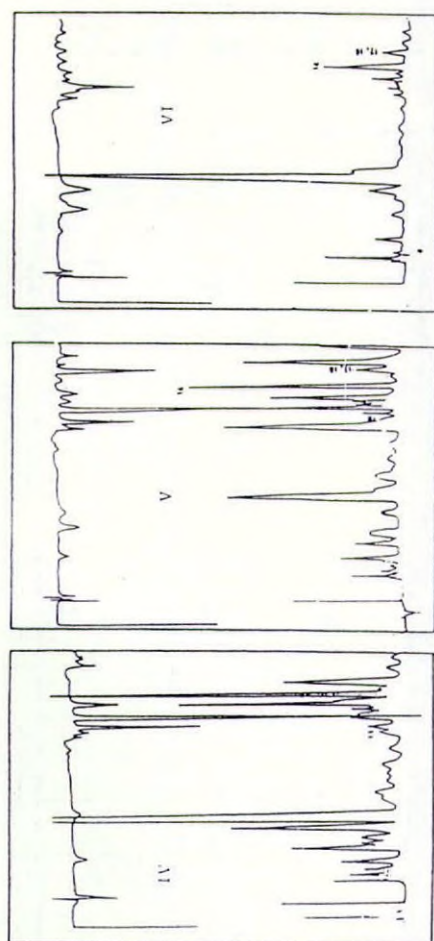
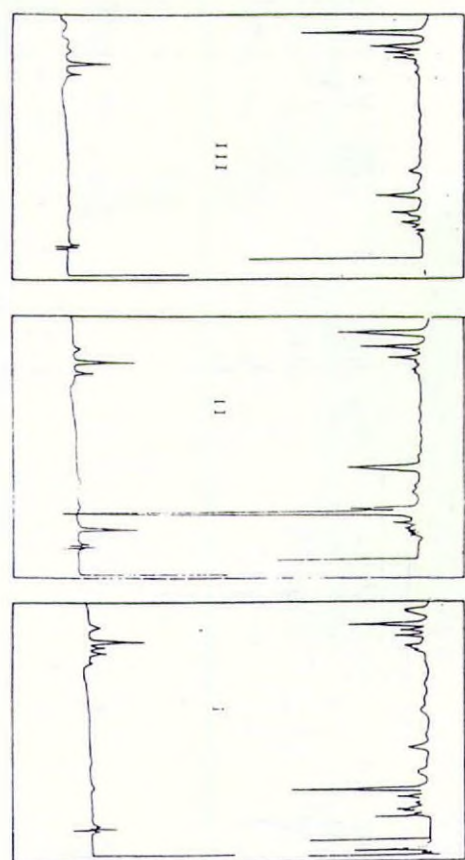


Fig.10 Análisis cualitativo de las bandas obtenidas de un vino sobre Sephadex G-10

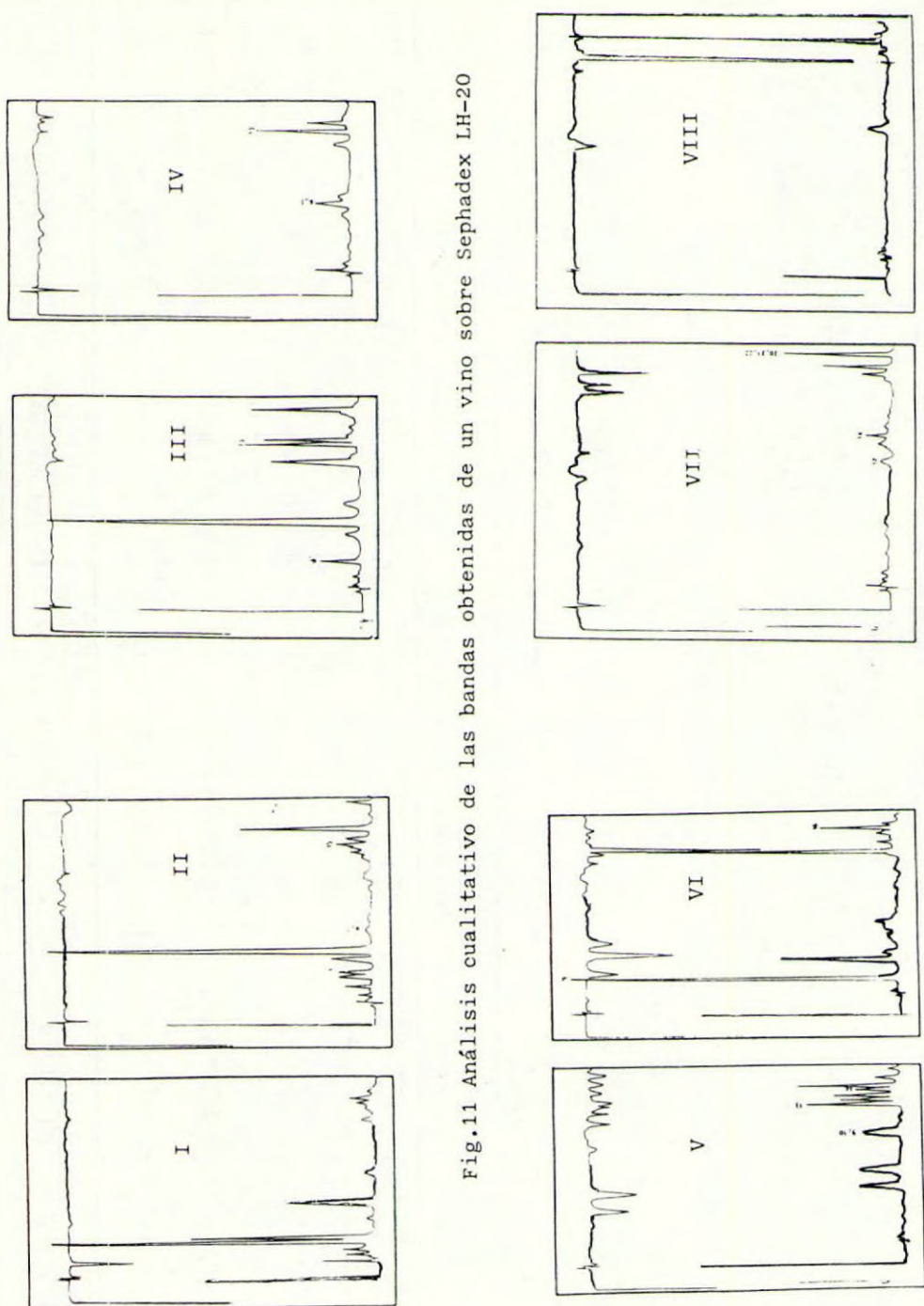


Fig.11 Análisis cualitativo de las bandas obtenidas de un vino sobre Sephadex LH-20

ESTUDIO DE LA EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO DE LOS ACIDOS FENOLICOS DEL VINO

Guillén Sánchez, D.A.; Cela Torrijos R.; García Barroso, C.; Pérez-Bustamante Monasterio, J.A.; Departamento de Química Analítica. Facultad de Ciencias. Universidad de Cádiz.

RESUMEN

En el presente trabajo se realiza un estudio comparativo entre dos métodos de extracción líquido-líquido, de ácidos benzoicos e hidroxicinámicos, el propuesto por la bibliografía, consistente en una extracción múltiple en 4 etapas y un método de extracción en continuo denominado extracción diferencial. Los controles se llevan a cabo mediante la HPLC.

INTRODUCCION

Es un hecho conocido desde hace mucho tiempo que el color de los vinos blancos y el de todos los alimentos con escaso color propio, se intensifica con el paso del tiempo. En los vinos de Jerez este fenómeno se denomina "remontado" y va asociado a toda una serie de alteraciones de sus propiedades organolépticas.

Es conocida la participación de azúcares y aminoácidos así como de compuestos carbonílicos en dicho fenómeno. Aunque la gran mayoría de autores admiten que son los compuestos polifenólicos, los implicados de una forma más importante en dicho fenómeno, de ahí la importancia de obtener una información analítica acerca del contenido polifenólico de los vinos de Jerez.

Hay que disponer por tanto de un método de análisis de estos compuestos que nos permita conocer la composición analítica-cualitativa de

estos, en todo momento del proceso de vinificación.

Sin embargo para poder abordar el análisis de estas especies hay que tener en cuenta dos aspectos:

- 1º) La complejidad de las muestras. Determinando la necesidad de utilizar técnicas analíticas muy potentes (HPLC, EM, IR, etc.) para abordar el problema con ciertas garantías de obtención de resultados fiables. Pero incluso técnicas como la HPLC y su combinación con sistemas de detección de alto poder discriminante precisan etapas previas de fraccionamiento que permitan simplificar la interpretación de los resultados obtenidos.
- 2º) Las cantidades en que estas sustancias se encuentran en los vinos es sumamente variable oscilando entre decenas de mg/l hasta centesimas de mg/l. En general para su análisis resulta preciso un proceso de preconcentración que asegure la obtención de señales analíticas facilmente mensurables.

La situación ideal, logicamente, supone disponer de un proceso eficiente de preconcentración que simultaneamente permitiera un fraccionamiento de las especies consideradas en tres o cuatro grupos discretos , separando estos del resto de los componentes de las muestras.

En base a estos dos puntos, los métodos de fraccionamiento propuestos en la bibliografía son: cromatografía de papel, TLC, GPC, así como extracción líquido-líquido, demixión y precipitación.

El presente trabajo, enmarcado dentro de un proyecto más amplio, constituye un estudio experimental crítico de algunas proposiciones de la bibliografía acerca de métodos de extracción de estos compuestos con eter etílico y acetato de etilo (AcOEt) como disolventes extractantes (1,2,3).

En general, las propuestas de la bibliografía afirman la obtención de excelentes rendimientos en este tipo de extracción y por tanto, si bien no parece facil lograr un fraccionamiento limpio entre grupos era previsible al menos, confirmar las posibilidades de tales métodos en lo que respecta al seguimiento cuantitativo de estas especies. Los cri-

terios de cuantificación empleados por algunos autores son bastante discutibles en base a múltiples aspectos, pero en cualquier caso no parece que pueda juzgarse la calidad de un método de extracción para una familia o conjunto de especies sin estudiar el comportamiento de cada especie en particular y el rendimiento de cada una de ellas.

La revisión bibliográfica realizada previamente al inicio del trabajo experimental, no nos ha permitido disponer de datos en este sentido y por tanto ha parecido conveniente el estudiar hasta que punto los distintos compuestos polifenólicos son extraídos en las condiciones descritas por la bibliografía. Lógicamente, por razones de tiempo este estudio se ha restringido a una familia de compuestos fenólicos, en este caso los ácidos fenólicos derivados del ácido benzoico y cinámico. .

El fraccionamiento cromatográfico mediante HPLC, puesto a punto y publicado (4), por el equipo de este departamento, permite la resolución de la mayor parte de las 22 especies consideradas aquí, sin embargo algunos picos aparecen solapados en mayor o menor extensión, en algunos casos de manera significativa como para impedir su cuantificación fiable.

Ante este problema y habida cuenta de que interesaba una cuantificación lo más exacta posible del área y altura de los picos, en orden a establecer con exactitud la recuperación de cada compuesto, se optó por dividir el conjunto de especies consideradas en tres grupos, cuyos picos aparecieran suficientemente distanciados como para asegurar la existencia de línea base entre cada par de picos y, con ello, una integración exacta de las áreas de pico.

MATERIAL Y METODOS

A) Extracción Diferencial.

Dos ml. de una disolución de patrones (cuyas concentraciones varían según la especie entre 8 y 100 ppm) se depositan en el interior del cuerpo del extractor, posteriormente se adicionan 470 ml. de una diso

ción matriz (solución de etanol al 15% a la que se le ajusta el pH con ácido tartárico). La solución resultante se extrae son 125 ml. de eter etílico durante tres horas. Se deja al equipo alcanzar la temperatura ambiente durante media hora. Se añaden 10 ml. de eter a través del embudo distribuidor del dispositivo extractor. Posteriormente y por el embudo distribuidor se añade agua destilada hasta que todo el eter que haya quedado en el cuerpo extractor y en el embudo distribuidor pase al matraz de evaporación. Se trasvasa todo el eter, así como la fase acuosa que eventualmente haya pasado al matraz de evaporación a un embudo de decantación, separando la fase acuosa y secando durante una hora con Na_2SO_4 anhidro la fase orgánica que ha quedado. Posteriormente se concentra a vacío en rotavapor hasta un volumen final de 0,5 ml.. Este concentrado es recogido y llevado a un matraz aforado de 5 ml. el cual se enrasa con una disolución de MeOH (HPLC)/ H_2O (bidestilada) 1:1. Este extracto posteriormente es filtrado con una membrana y pre-filtro de 0,5 μm , inyectándose en el cromatógrafo de líquidos 15 μl . de esta disolución.

En el presente trabajo las muestras de vino a extraer han sido preparadas de la siguientes formas:

- a) a 470 ml. de vino ("fino") se ajusta el pH hasta alcanzar el valor 2 y posteriormente se extrae segun la metodología descrita.
- b) 200 ml. de vino ("fino") es diluido con agua hasta 470 ml., se ajusta el pH a 2 y luego se procede segun la metodología des-crita.

B) Extracción Convencional

2 ml. de la disolución de patrones (cuyas concentraciones varían segun especie entre 8 y 100 ppm) se lleva a 100ml. con una disolución matriz (solución de etanol al 15% cuyo pH se reguló con ácido tartárico) y se concentra a vacío, a una temperatura menor de 40°C en rotavapor has

ta hasta 25 ml. Una vez obtenido el concentrado, éste se trasvasa a un embudo de decantación de 100ml. y se extrae 4 veces con sendas porciones de 10 ml. de eter etílico, agitando vigorosamente y dejando decantar las fases. Reunidos los 4 refinados orgánicos se dejan secar durante una hora con Na_2SO_4 anhidro. Posteriormente, se concentra a vacío en rotavapor hasta aproximadamente 0,5 ml.. Se recoge el extracto y se lleva a 5 ml. en un matraz aforado con una disolución de MeOH (HPLC) / H_2O (bidestilada) 1:1. Este extracto es posteriormente filtrado utilizando membrana de 0,5 μm . y prefiltro. Posteriormente es inyectado en el cromatógrafo de líquidos.

En el presente trabajo también se ha utilizado una variante de este método y que solamente se diferencia de la anteriormente descrita en que se ha eliminado la etapa de preconcentración; de tal forma que 2 ml. de la disolución de ácidos fenólicos es directamente llevada a 25 ml con la disolución matriz, procediéndose a la extracción de la forma descrita.

Esta misma extracción se ha estudiado utilizando acetato de etilo como agente extractante.

Y en ambos casos (agentes extractante eter y acetato de etilo) siguiendo esta metodología, se han extraído muestras de 100 ml. de vino a las que se les había ajustado el pH al valor requerido en cada caso.

C) Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)

El cromatógrafo utilizado en las experiencias ha sido de la casa Waters compuesto por dos bombas, inyector, un programador de gradientes y un detector UV de doble canal. La integración de áreas de pico se lleva a cabo mediante un equipo de Perkin-Elmer Sigma 15.

Las adiciones de patrones para la identificación de los picos cromatográficos se realizaron con inyecciones de 5 μl de los patrones en cuestión.

Las condiciones de operación seleccionadas previamente por nuestro equipo (4) fueron:

- Fase Movil: Disolvente A: AcH 2%, Metanol 10% en H_2O .
Disolvente B: AcH 2%, Metanol 90% en H_2O .
Flujo: 1 ml/min.
- Fases de Elución: 1. Isocrático durante 5 min. con dvte. A.
2. Gradiente hasta 30% de dvte. B.
3. Se mantiene el 30% de dvte. B durante 8 min.
4. Continuación del gradiente hasta el 50% de dvte. B.
5. Se mantiene en 50% de dvte. B hasta la aparición del último pico.

RESULTADOS Y DISCUSION

El método de extracción de ácidos fenólicos considerado en el presente estudio fue puesto a punto mediante un estudio de optimización de parámetros experimentales tanto desde el punto de vista del dispositivo experimental como de las variables operacionales (pH, tiempo, etc.).

En el caso de la extracción diferencial, con respecto al dispositivo experimental se han estudiado comparativamente dos tipos de diseño estandarizados como muestra la fig.1, mediante una serie de experimentos en los que se variaba la concentración y volumen de las especies a extraer. Este estudio permitió seleccionar el dispositivo de la marca "Pobel" en base fundamentalmente al diseño del elemento difusor observándose que éste asegura una mayor superficie específica de contacto. Así mismo, se comprobó la necesidad de ajustar los parámetros de diseño en cada caso particular. Estos parámetros son fundamentalmente: Volumen de muestra, volumen de agente extractante y temperatura de extracción.

Una vez optimizado el dispositivo experimental, se pasó a optimizar las variables de extracción.

Los datos de la bibliografía no son concordantes en cuanto al pH de extracción de los ácidos fenólicos. De tal forma que mientras algunos autores recomiendan extraer directamente las muestras de vino, otros indican que deben ajustarse a un pH próximo o igual a 2,0 (5), y otros no mencionan este parámetro en sus comunicaciones.

A fin, de determinar la influencia del pH en la extracción se realizaron una serie de experiencias con las disoluciones de patrones en las cuales se variaba el pH de extracción. De estas experiencias se pudo concluir, que el pH óptimo de extracción para los ácidos fenólicos con éter etílico esta comprendido en el rango 1,5-3 aunque a pH 2 se extraen de forma máxima la mayor parte de ellos (ver fig. 2).

Se observó sin embargo, que al bajar el valor del pH de las muestras aparecen en los cromatogramas unos picos que no aparecen en el cromatograma control. El origen de estos picos podía ser:

- Debido a los equilibrios de protonación de algunas de las especies presentes (todas ellas ácidos débiles) y diferencias de tiempo de retención entre las formas protonadas y desprotonadas.
- Productos de degradación y/o polimerización y/o isomerización.
- Impurezas en los patrones más fácilmente extraíbles a pH ácidos.
- Formación de esteres con el ácido tartárico.

Se realizaron una serie de experiencias a fin de determinar la validez de estas hipótesis.

Así por ejemplo, se observó que la altura de estos picos "fantasmas" evoluciona de manera similar a la de los picos identificados como patrones. Lógicamente si se tratase de productos de equilibrios ácido-base deberían evolucionar de manera complementaria, es decir una disminución del pH de la disolución favorecería la existencia de la forma protonada que iría aumentando su concentración.

Es posible determinar la influencia del pH en este sentido suprimiendo el proceso de extracción; es decir, si la disolución se acidifi

fica hasta pH 2 y se inyecta directamente en el cromatógrafo de líquidos. En este caso, también aparecen picos a tiempos de retención correspondientes a los picos "fantasmas", y tales picos aparecen incluso en disoluciones no acidificadas cuando se prolonga su tiempo de almacenamiento en frigorífico. Por tanto, se puede concluir que: En el proceso de extracción aparecen nuevas especies, no identificadas. Estas especies aparecen por si solas con el tiempo de conservación de las disoluciones patrón, pero su aparición se acelera por acidificación de la disolución y especialmente durante la fase de extracción.

La última de las hipótesis pudo descartarse al sustituir el ácido tartárico por ácido sulfúrico, en cuyo caso se observan resultados completamente análogos.

De las experiencias realizadas se concluye que tales especies no identificadas son productos de degradación y/o polimerización y/o isomerización de los patrones.

Una vez que se ha visto que el pH óptimo de extracción para la mayoría de las especies es pH 2, se pasó a optimizar el parámetro tiempo. Representando las alturas de picos medidas en los cromatogramas correspondientes a estas experiencias, frente al tiempo de extracción se obtienen los gráficos de la fig 3.

Estos resultados confirman la teoría general de la extracción diferencial, en el sentido de que no por aumentar indefinidamente el tiempo de extracción vamos a obtener rendimientos progresivamente más altos, sino que este tipo de extracción alcanza un máximo a un tiempo determinado. En general el rendimiento de extracción para el método en continuo aumenta con el tiempo de extracción aunque dicho aumento no es significativo por encima de las 3 h..Este tiempo supone una solución de compromiso aceptable entre el rendimiento obtenido y el tiempo necesario para la realización del análisis.

Una vez que la metodología para la extracción en continuo de los ácidos fenólicos con eter etílico había sido puesta a punto se realizó un estudio comparativo de la reproducibilidad del método, con respecto

al de extracción convencional descrito en la bibliografía por C. Diez y col. (6). Los esquemas de ambos procedimientos se han resumido en la fig. 4. En ésta puede apreciarse que el método de extracción convencional, debido a las diversas manipulaciones que implica (preconcentración, 4 etapas de extracción y trasvase, así como la utilización de menor cantidad de muestra) previsiblemente debe venir, caracterizado por una menor reproducibilidad. Por otra parte y puesto que en este método de extracción convencional se puede distinguir dos etapas importantes, la preconcentración y la extracción, se estudió, asimismo, una variante consistente en la eliminación de la etapa de preconcentración. De esta forma fue posible dilucidar la magnitud y procedencia de los errores asociados a cada etapa del procedimiento.

Dicho estudio comparativo se realizó con la mezcla total de ácidos fenólicos considerados, sextuplicando cada experiencia a fin de obtener una comparación estadísticamente fiable, efectuándose la comparación en base a datos de altura y áreas de picos. Los resultados obtenidos que aparecen en la tabla I, correspondientes a datos de los coeficientes de variación de las áreas de pico de las especies bajo estudio para las tres variantes metodológicas ensayadas, permiten concluir que la reproducibilidad de los métodos estudiados decrece en el sentido extracción convencional sin preconcentración, extracción diferencial y extracción convencional con preconcentración. Puesto que la primera es una variante metodológica sin valor práctico, debe concluirse que la extracción diferencial es un método significativamente más preciso que la extracción convencional en la forma descrita por la bibliografía (6).

Con los valores de alturas y áreas medias obtenidas para cada pico en cada uno de los métodos se obtiene el rendimiento de extracción para cada ácido considerado , (tabla II). En esta tabla se puede observar que:

- Los errores asociados a la etapa de preconcentración en el método de extracción convencional, son importantes alcan-

zando para algunos picos valores del 20-30% en el resultado del rendimiento de extracción.

- Los rendimientos de extracción mayores corresponden al método de extracción convencional sin preconcentración mientras, que los datos correspondientes al método de extracción convencional con preconcentración indican claramente pérdidas en la inmensa mayoría de las especies.
- En general, el método de extracción diferencial presenta rendimientos inferiores a los correspondientes al método de extracción convencional con preconcentración, si bien su mayor reproducibilidad lo hace preferible desde el punto de vista del control analítico de los ácidos fenólicos.

Los datos obtenidos del estudio de la reproducibilidad de los métodos estudiados reflejan que la falta de reproducibilidad del método de extracción convencional viene determinada en su mayoría por la etapa de preconcentración. Esta etapa de preconcentración es intrinsecamente poco reproducible. Por ejemplo, el tiempo que tarda la muestra en concentrarse no es similar en todos los casos de tal forma que las muestras se encuentran sometidas a una determinada temperatura durante un tiempo que es variable de un caso a otro. Estas variaciones en el tiempo requerido para la concentración de las muestras vienen determinada básicamente por las diferencias del vacío impuesto. Se realizó asimismo, un estudio tendente a determinar la influencia de la temperatura de preconcentración sobre los resultados globales del método de extracción, para lo cual se realizaron 6 experiencias consistentes en efectuar sendas extracciones variando únicamente la temperatura a la cual se concentraban las muestras. El análisis de la varianza realizado con los resultados obtenidos en esta serie de experiencias indicó sin embargo que aunque la etapa de preconcentración de las muestras en el método de extracción conventional determina los mayores errores asociados a este método, las variaciones en la temperatura de preconcentración, en el rango estudiado, no altera significativamente los resultados finales.

Asimismo, se ha procedido a estudiar la influencia que sobre la extracción de los ácidos fenólicos ejercen el etanol (EtOH), ya que el método ha de ser aplicable a muestras de vinos con distinto contenido alcohólico. Este estudio se desarrolló de manera similar a los anteriormente mencionados, sometiendo los resultados obtenidos a un análisis de la varianza del cual se pudo concluir que dicha influencia solo se manifiesta sobre 6 de las 22 especies consideradas, y especialmente para tres de ellas: Ácidos m-hidroxibenzoico, 2,6-dimetoxibenzoico y caféico.

Una vez que se había completado el estudio previsto de la extracción de ácidos fenólicos con éter etílico se pasó a realizar el estudio análogo de la extracción de dichos con acetato de etilo. Se plantearon una serie de experiencias previas consistente en una extracción convencional y otra diferencial. Esta última indicó la inviabilidad de la utilización de AcOEt como extractante en el método de extracción diferencial debido fundamentalmente a dos causas, primero a la mala difusión de este a través de la muestra, segundo, por su relativamente alta temperatura de ebullición.

Después de haber descartado el método en continuo, se pasó a optimizar el pH de extracción de los ácidos fenólicos con AcOEt por el método de extracción convencional. Se realizaron las experiencias correspondientes (tabla III) concluyéndose de éstas, que el máximo rendimiento de extracción de los ácidos fenólicos con AcOEt se obtiene situando el pH en el margen 2-3 tomándose el pH de compromiso el valor 2,5.

Una vez optimizado el pH de extracción se realizó un estudio de la reproducibilidad de este método, análogo al realizado cuando se estudió la extracción con éter etílico (mezcla total de ácidos en cuestión y la experiencia por quintuplicado) en dicho estudio se pudo observar que en general, la reproducibilidad de la extracción convencional con AcOEt es algo inferior a la correspondiente extracción con éter etílico aunque las diferencias no son demasiado significativas.

Calculando el rendimiento obtenido por este método para los distintos ácidos considerados, y comparándolos con los obtenidos para el

mismo método de extracción utilizando eter como extractante se puede concluir que: El rendimiento de extracción obtenido con AcOEt es superior para los ácidos gálico, 2,4,6-trihidroxibenzoico, protocatéquico, α -resorcílico, m-hidroxibenzoico, 2,6-dimetoxibenzoico, caféico y o-cumárico; inferior para el ácido gentísico, extrayéndose las restantes especies consideradas en proporción similar con ambos disolventes.

Asimismo, al igual que en el estudio de la extracción con eter etílico se realizaron una serie de experiencias a fin de determinar la influencia del etanol presente en las muestras sobre los rendimientos de extracción. El análisis de la varianza realizado con los datos obtenidos en estas experiencias indicó que el etanol no presenta influencia sobre la recuperación obtenida en la extracción, excepto para los ácidos p-hidroxibenzoico y γ -resorcílico.

Por ultimo una vez optimizados los distintos métodos de extracción para las disoluciones sintéticas de patrones, se aplicaron estos a muestras reales de vino y se planteo una serie de 4 experiencias consistentes en:

- Experiencia A: Extracción diferencial con eter etílico utilizando un volumen de muestra de 470 ml. de vino con el pH ajustado a 2.
- Experiencia B: Extracción análoga a la anterior, utilizando 200 ml. de vino que fueron diluidos con agua hasta un volumen final de 470 ml., posteriormente se le reguló el pH a 2.
- Experiencia C: Extracción convencional con eter etílico. El pH de la muestra fue regulado a 2.
- Experiencia D: Análoga a la anterior, variando el agente extractante; AcOEt y el pH de la muestra que se reguló a 2,5.

Los cromatogramas correspondientes a esta serie de experiencias fueron registrados con una sensibilidad en el detector de 0,2 AUFS y se encuentran reproducidos en la fig.5.

En los cromatogramas obtenidos se observa que no existen diferencias cualitativas significativas entre unos y otros.

En cuanto a las diferencias de recuperación, si comparamos los cromatogramas correspondientes a las experiencias C y D (mismo método, distinto disolvente) se observa que en la correspondiente extracción con AcOEt se obtienen picos más altos.

Si se compara B y D se puede observar que la recuperación de las sustancias extraídas del vino (entre ellas los ácidos fenólicos) es superior en la experiencia D puesto que el volumen de muestra es doble para la experiencia B.

Si se compara A con B (470 ml. versus 200ml.) se observa que el cromatograma A es mucho más alto, pero esto no tiene otro interés sino observar que a pesar de las saturaciones de escala de registro en la experiencia A no se observa pérdida de resolución entre los picos.

Luego se pueden concluir fundamentalmente dos puntos:

- a) La conveniencia de diluir las muestras de vino en proporción 1:2 con agua para su extracción diferencial.
- b) La posibilidad de sobrecargar la columna y coleccionar picos cromatográficos para su posterior investigación mediante otras técnicas analíticas. Este hecho viene determinado la ausencia de pérdidas de resolución de picos al aumentar la cantidad de muestra extraída.

Los estudios realizados en el presente trabajo han demostrado de una manera clara que las técnicas de extracción, en sus distintas variantes, con los agentes extractantes más recomendados por la bibliografía (éter etílico y acetato de etilo) adolecen de tres defectos fundamentales.

- 1) Falta de cuantitatividad para muchas de las especies consideradas.
- 2) Falta de reproducibilidad.
- 3) Implican la aceleración de los procesos degradativos espontáneos de algunas de estas especies, conduciendo lógicamente a la producción de artefactos analíticos.

De todas las técnicas de extracción estudiadas en el presente

trabajo para los patrones de ácidos fenólicos, la extracción diferencial es la que presenta una solución de compromiso óptima entre reproducibilidad y cuantitatividad. Por tanto, parece la técnica más adecuada para el control cuantitativo de la evolución de estas especies a lo largo de los procesos de vinificación, no obstante proseguimos en el momento actual, en la búsqueda de algun sistema extractante que permita minimizar los inconvenientes mencionados.

BIBLIOGRAFIA

- (1) J. Ribereau-Gayon; A. Maurie,; Bull. Inter. Vin., 15, 60 (1.942).
- (2) K. Weinges; M. V. Piretti; Ann. Chimica, 62, 1 (1.972).
- (3) G. Alibert; A. Carrasco; Groupe Polyphenols. Compte Rendu de L'Assemblée Generale Annuelle. Bull. 5 (1.974).
- (4) C. Garcia Barroso; R. Cela; J. A. Pérez-Bustamante; Chromatographia, 17, 249 (1.983).
- (6) K. Yokotsuka; Y. Takahasi; M. Yoshit; T. Kushida; J. Ferm. Techn., 56 (2), 121 (1.978).
- (7) C. Diez; C. Gomez-Cordoves; Rev. Agroq. Technol. Aliment., 20 (2), 247 (1.980)
- (8) C. Garcia Barroso; R. Cela; J. A. Perez-Bustamante. VI Jornadas de Viticultura y Enología de Tierra de Barros. Comunicación personal. Almendralejo. Mayo 1.984

TABLA I

Coeficientes de variación de las medidas de las áreas de picos para las experiencias REG, REC y RREC.

(c) ACIDO	REG	REC	RREC (a)
	(%)	(%)	(%)
(1) Gálico	8.62	10.07	22.85
(2) 2,4,6-Trihidroxibenzoico	3.69	21.92	68.40
(3) Protocatéquico	{ 14.08(b)	{ 3.56(b)	{ 18.57(b)
(4) α -Resorcílico			
(5) Gentísico	13.20	4.28	16.07
(6) p-Hidroxibenzoico	13.21	3.23	17.01(b)
(7) γ -Resorcílico	19.44	5.21	
(8) m-Hidroxibenzoico	13.58	5.04	18.65
(9) β -Resorcílico	11.60	4.47	19.44
(10) Vanílico	11.64	2.31	19.41
(11) 2,6-Dimetoxibenzoico	{ 12.44(b)	{ 6.59(b)	{ 19.96(b)
(12) Caféico			
(13) Siríngico	15.93	3.86	23.23
(14) p-Cumárico	22.65	18.35	30.55
(15) Verátrico	{ 13.71(b)	{ 4.46(b)	{ 21.61(b)
(16) Ferúlico			
(17) m-Cumárico			
(18) Sinápico			
(19) 2,4-Dimetoxibenzoico	{ 18.76(b)	12.71	{ 29.26(b)
(20) o-Cumárico		7.77	
(21) 3,4,5-Trimetoxicinámico	{ 18.76(b)	10.09	{ 29.26(b)
(22) 3,5-Dimetoxibenzoico		2.07(b)	

(a) REG: Extracción Diferencial

REC: Extracción Convencional sin Preconcentración

RREC: Extracción Convencional con Preconcentración

(b) Picos totalmente solapados.

(c) Entre parentesis se indica el numero de identificación de cada ácido considerado.

TABLA II

Tantos por ciento de recuperación, calculados para los 22 ácidos fenólicos referido a las áreas de los picos, para las tres variantes de extracción.

ACIDO Nº(c)	REG	REC	RREC(a)
1	38.3	51.7	37.3
2	17.1	34.2	5.0
3	{ 65.0(b)	{ 79.9(b)	{ 71.2(b)
4	{ 67.1	{ 76.1	{ 73.0(b)
5	{ 71.2(b)	{ 82.7(b)	{ 73.0(b)
6	{ 66.1	{ 74.9	{ 72.9
7	{ 102.7	{ 106.5	{ 99.5
8	{ 68.4	{ 82.2	{ 80.0
9	{ 45.1(b)	{ 63.3(b)	{ 59.0(b)
10	{ 56.1	{ 74.6	{ 72.2
11	{ 37.7	{ 68.1	{ 59.9
12	{ 68.0(b)	{ 79.5(b)	{ 68.5(b)
13	{ 68.0(b)	{ 79.5(b)	{ 68.5(b)
14	{ 68.0(b)	{ 79.5(b)	{ 68.5(b)
15	{ 25.7	{ 63.7	{ 52.5
16	{ 41.2(b)	{ 69.0(b)	{ 59.4(b)
17	{ 41.2(b)	{ 69.0(b)	{ 59.4(b)
18	{ 41.2(b)	{ 69.0(b)	{ 59.4(b)
19	{ 41.2(b)	{ 69.0(b)	{ 59.4(b)
20	{ 41.2(b)	{ 69.0(b)	{ 59.4(b)
21	{ 41.2(b)	{ 69.0(b)	{ 59.4(b)
22	{ 41.2(b)	{ 69.0(b)	{ 59.4(b)

(a),(b) y (c) Vease la Tabla I

TABLA III

pH óptimo de extracción con acetato de etilo
para los ácidos fenólicos.

pH 2,0

Acido α -Resorcílico
" γ -Resorcílico
" Siríngico

pH 2,5

Acido Gálico
" 2,4,6-Trihidroxibenzoico
" Gentísico
" m-Hidroxibenzoico
" 2,6-Dimetoxibenzoico
" 3,5-Dimetoxibenzoico
" Vanílico
" Sinápico

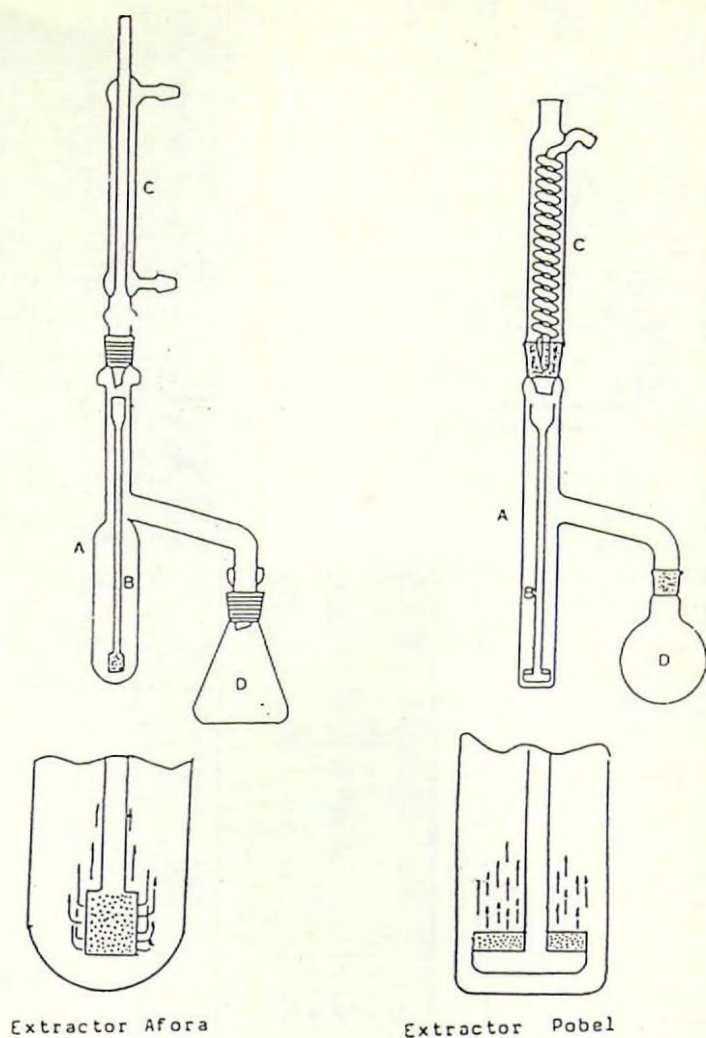
pH 3,0

Acido p-Cumárico
" Ferúlico
" d-Cumárico
" Protocatéquico
" p-Hidroxibenzoico
" β -Resorcílico
" Cafeico
" m-Cumárico
" Verátrico
" 3,4,5-Trimetoxicinaámico

TABLA IV

Rendimientos medios calculados de las áreas obtenidas para la serie de 5 experiencias del estudio de la reproducibilidad. Comparación de la extracción convencional con éter y acetato de etilo.

Acidos	Eter	AcOEt
GALICO	51.7	80.31
2,4,6-TRIHIDROXIBENZOICO	34.2	40.28
PROTocatequico	79.9	88.68
α -RESORCILICO	96.1	86.12
GENTISICO	82.7	84.06
p-HIDROXIBENZOICO	74.9	89.85
γ -RESORCILICO	106.5	115.25
m-HIDROXIBENZOICO	82.2	94.49
β -RESORCILICO	63.3	78.52
VANILLICO	74.6	83.38
2,6-DIMETOXIBENZOICO	68.1	74.75
CAFEICO		
SIRINGICO		82.37
p-CUMARICO	79.5	
VERATRICO		85.60
FERULICO		
m-CUMARICO		70.32
SINAPICO	63.7	
2,4-DIMETOXIBENZOICO	69.0	73.72
o-CUMARICO		
3,4,5-TRIMETOXICINAMICO		
3,5-DIMETOXIBENZOICO		



PARAMETROS DE DISEÑO
.- Forma del elemento difusor
.- Volumen de muestra
.- Volumen de agente extractante
.- Temperatura

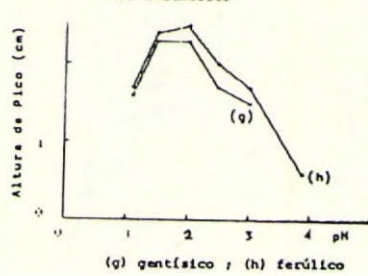
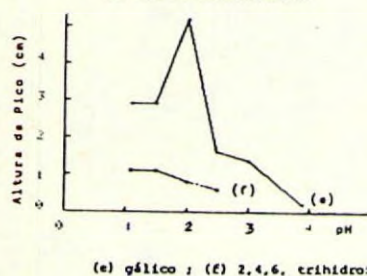
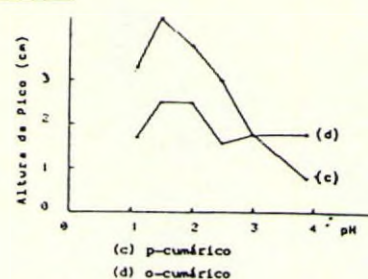
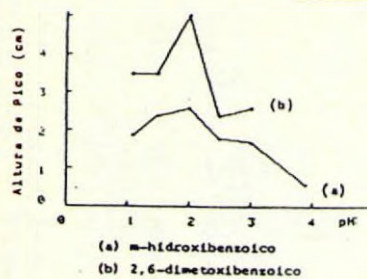
Fig. 1

OPTIMIZACION DE PARAMETROS EXPERIMENTALES

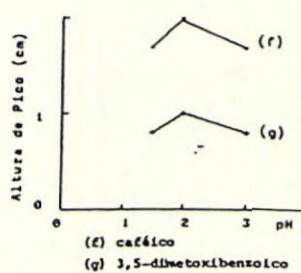
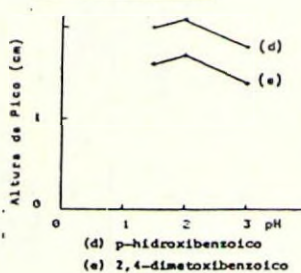
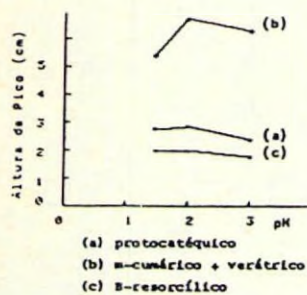
.- pH

.- tiempo

DISOLUCION A



DISOLUCION B



DISOLUCION C

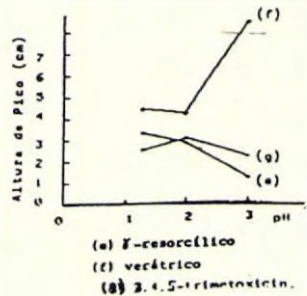
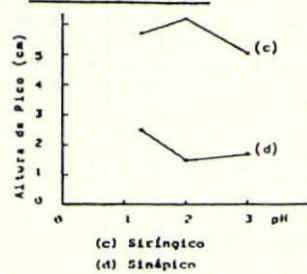
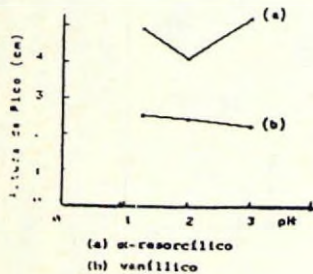


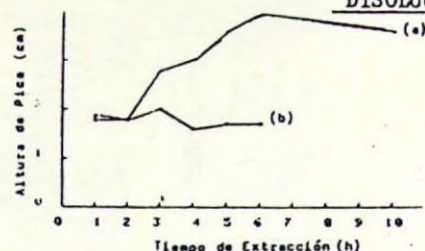
Fig. 2

OPTIMIZACION DE PARAMETROS EXPERIMENTALES

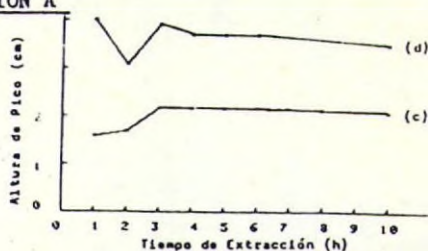
•- pH

•- tiempo

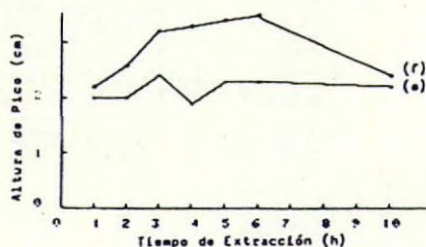
DISOLUCION A



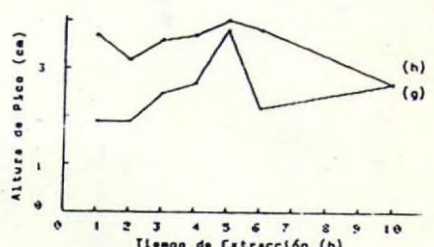
(a) gálico ; (b) 2,4,6-trihidroxibenzoico



(c) gentísico ; (d) o-cumárico

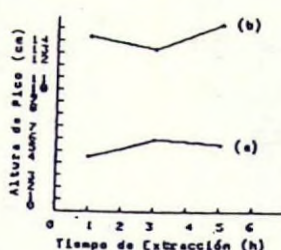


(e) m-hidroxibenzoico ; (f) p-cumárico

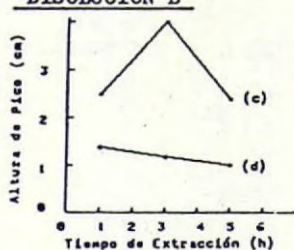


(g) 2,6-dimetoxibenzoico ; (h) ferúlico

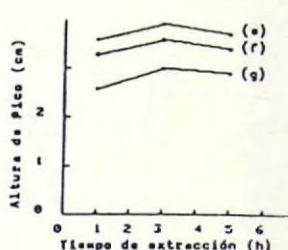
DISOLUCION B



(a) protocatechuico
(b) m-cumárico

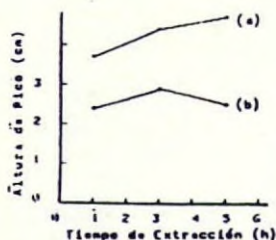


(c) 2,4-dimetoxibenzoico
(d) 3,5-dimetoxibenzoico

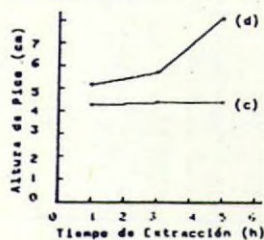


(e) 8-resorcinol
(f) p-hidroxibenzoico
(g) caféico

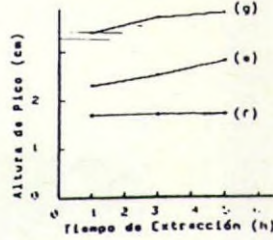
DISOLUCION C



(a) 8-resorcinol
(b) 7-resorcinol



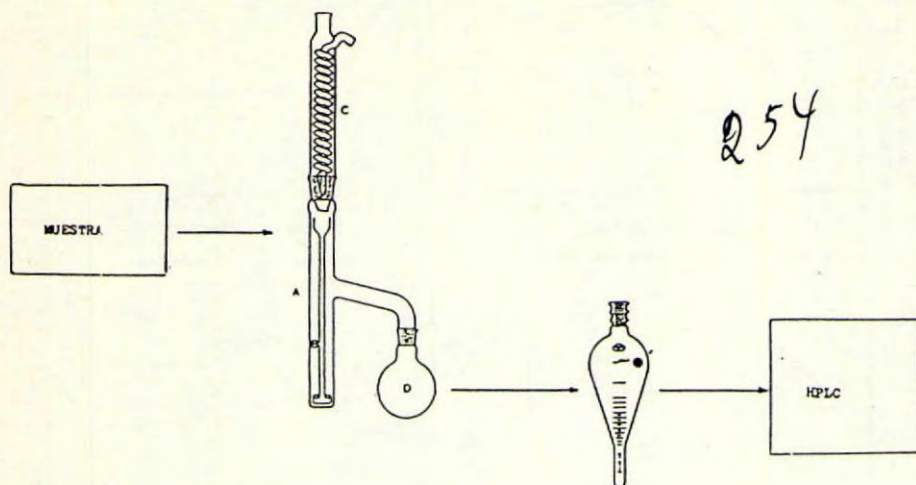
(c) vanilín
(d) síngico



(e) vanilín
(f) síngico
(g) 3,4,5-trimetoxibenzoico

Fig. 3

ESQUEMA DEL METODO DE EXTRACCION DIFERENCIAL



ESQUEMA DEL METODO DE EXTRACCION CONVENCIONAL

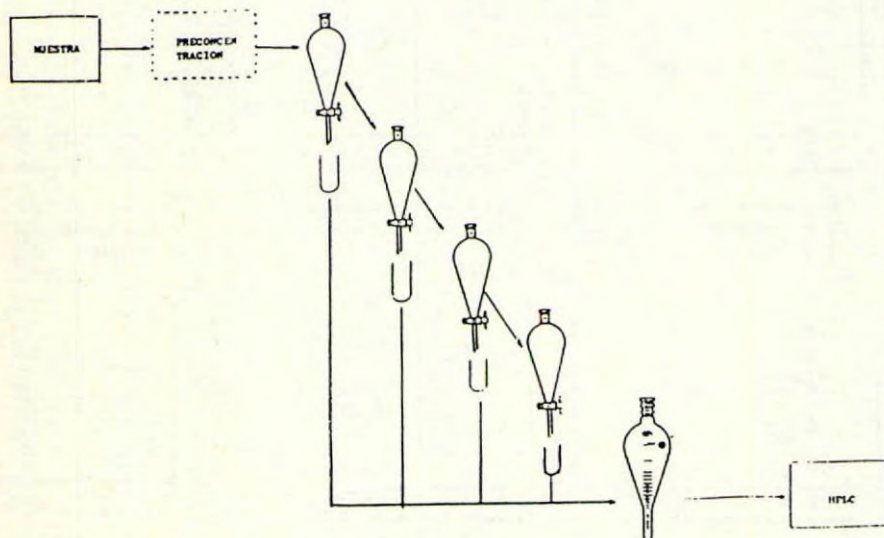
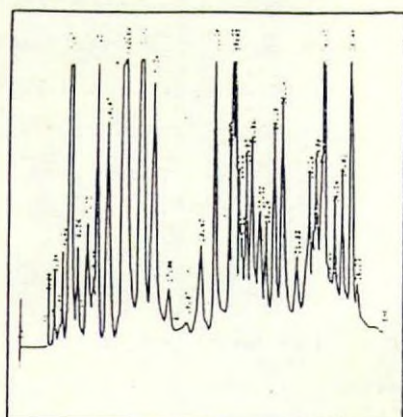
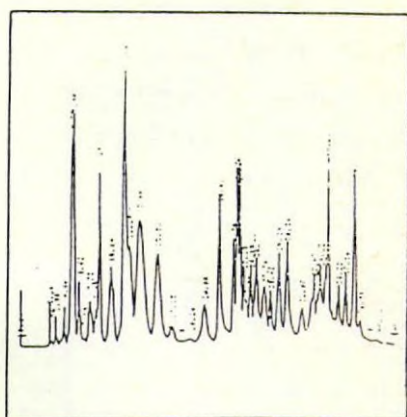


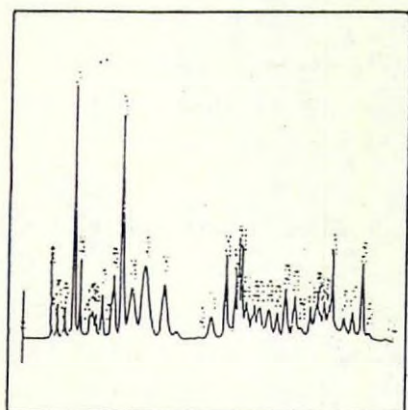
Fig. 4



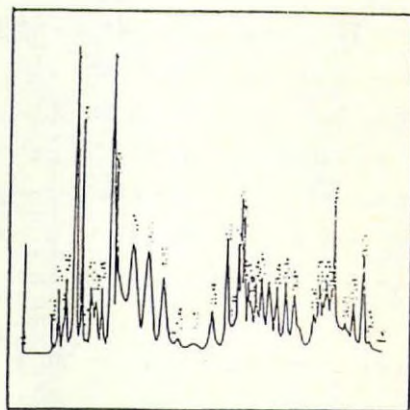
EXPERIENCIA A



EXPERIENCIA E



EXPERIENCIA C



EXPERIENCIA D

"EVOLUCION DE LOS ACIDOS FENOLICOS A LO LARGO DEL PROCESO DE ELABORACION DEL VINO FINO DE JEREZ".

Carmelo G. Barroso; R. Cela; J.A. Pérez-Bustamante.

Dpto. Química Analítica. Facultad de Ciencias de Cádiz.

RESUMEN

La separación y determinación de ac. fenólicos en vinos mediante la cromatografía líquida de alta resolución, nos ha permitido realizar el estudio de la evolución de dichos ácidos durante la vinificación del vino fino. Se han estudiado los efectos provocados por las diferentes etapas de la elaboración (prensada, desfangado, fermentación tumultuosa, deslio, encabezado y formación del velo) en el contenido de los ácidos fenólicos.

INTRODUCCION.

En comunicaciones y trabajos anteriores hemos puesto de manifiesto la importancia que tienen los compuestos polifenólicos en el vino. Así como, el interés del Enólogo en poseer información de dichos compuestos en todo momento de la vida de un vino y controlar el papel de éstos en circunstancias especiales, tales como el "remontado". Nosotros y encaminados a estos fines, aplicando la metodología que hemos puesto a punto en anteriores trabajos (1,2), hemos realizado un estudio de seguimiento de una familia de polifenoles no flavonoides, como son los ác. fenólicos.

El contenido específico en polifenoles de un vino, no va ser un fiel reflejo del arsenal en polifenoles que posea cada variedad de uva. Los polifenoles en efecto se extraen de la uva, pero la manipulación de la misma el tratamiento mecánico para la obtención del mosto, el tipo de vinificación y envejecimiento, son los que van a condicionar el contenido variado de polifenoles de un vino. Una vez extraídos de la uva van a tener autonomía propia como para evolucionar ellos mismos o desaparecer y aparecer en otros compuestos y todas estas reacciones tendrán lugar a lo largo de los distintos procesos de la elaboración del vino.

El estudio de los ac. fenólicos se ha llevado a cabo a lo largo de todo el proceso de elaboración del vino fino de Jerez durante la vendimia de 1983. Para ello, se ha realizado el seguimiento sobre un mosto procedente de un mismo tipo de uva y de una misma viña, con idea de hacerlo lo mas representativo posible. Es decir, una prensa era cargada

con una uva procedente de una misma viña, esta prensada es muestreada para nuestro estudio y el mosto obtenido aprovechable para fino de 1ª calidad, pasa al depósito del desfangado, llenándose éste de las prensadas necesarias, pero con uva de la misma procedencia. Una vez desfangado, el depósito en estudio se pasó al depósito donde iba a transcurrir la fermentación, estudiándose este depósito durante dicho proceso, así como todos los procesos que desde aquel momento tuvieron lugar.

En lo que concierne a la metodología empleada, la extracción de los compuestos no flavonoides del mosto se ha llevado a cabo mediante una extracción diferencial con eter etílico, con las variables (pH, tiempo) seleccionadas por los autores (3). Este tipo de extracción no solamente es el que presenta mejor reproducibilidad, sino que en otros trabajos realizados por los autores (4) se encontró que posee mejor rendimiento para las muestras de mostos.

Las muestras de mostos en el momento de su recogida eran mezcladas con DMF (10%) y ac. ascórbico (0.2%), actuando éstos como estabilizantes para evitar cambios de color o fermentaciones espontáneas antes de proceder a su análisis. La filtración de los mostos se realizaba en el momento de su recogida y de la manera mas rápida posible con unos paños especiales. Las muestras eran almacenadas en el congelador hasta el momento de su análisis.

Una vez extraídos los ácidos fenólicos, se procede a su fraccionamiento cromatográfico mediante la HPLC, llevando a cabo una elución optimizada previamente por los autores (2) sobre una columna de fase reversa. La determinación cuantitativa de cada ácido se realizó estableciendo curvas de calibrado específicas para cada ácido e interpolando posteriormente la altura medida del pico correspondiente en el cromatograma de la muestra dada.

MATERIAL Y METODOS.

El agua usada en todas las experiencias ha sido especialmente tratada para HPLC, siendo bidestilada y filtrada a través de cartuchos Norganic y membranas de 0.45 μ m. Los disolventes empleados son de pureza para HPLC en su mayoría Scharlau, éstos han sido también filtrados y desgasificados en un baño ultrasónico, análogamente se ha realizado con los patrones de las curvas de calibrado, así como con los extractos obtenidos, antes de inyectarlos en el cromatógrafo.

El cromatógrafo usado ha sido un equipo Waters, provisto de dos bombas, programador de gradientes, inyector y detector UV de doble canal. La columna empleada fue una μ Bondapak C_{18} , de 30cms x 3.9 mm y 10 μ m de tamaño de partícula.

a) Extracción de compuestos polifenólicos del mosto.

Una vez descongelados los mostos, se tomaban 200 ml. los cuales se llevaban a pH 2 con ac. fórmico, se traspasaba al cuerpo del extractor y se llevaban con agua destilada hasta un volumen final de 470 ml. En el matraz se depositaban 125 ml de eter etílico y se extraía durante dos horas. Se deja reposar 1/2 hora hasta t^a ambiente y se separan las fases, secándose la fase etérea durante 1 hora con Na_2SO_4 anhidro, posteriormente se concentra a vacío eliminándose el eter y recogiendo el residuo con MetOH/ H_2O (1:1) hasta un volumen final de 5 ml., constituyendo esta solución el extracto del mosto.

b) Fraccionamiento cromatográfico.

El extracto se filtra a través de membranas de 0.45 μ m y se inyectan 15 μ l sometiéndolos a las siguientes condiciones:

Fase móvil: A(AcH 2%, MetOH 10% en agua); B(AcH 2%, MetOH 90% en agua)

Flujo: 1 ml/min.

Gradiente: 0% - 100%B en 15 min. Curva 9

Detección: 280 y 340 nm. Sensibilidad 0.05 AUFS y 0.2 AUFS

Fases de elución:

1º Isocrático durante 5 min. con disolvente A

2º Gradiente hasta 30%B

3º Mantenimiento en 30%B durante 8 min.

4º Continuación del gradiente hasta 50%B

5º Mantenimiento en 50%B hasta último pico

RESULTADOS Y DISCUSION.

Establecimiento de las curvas de calibrado.

Se prepararon mezclas de ácidos de concentraciones crecientes, sometiéndolas a las mismas condiciones que las muestras estudiadas, la obtención de la curva de calibrado para cada ácido se llevó a cabo mediante ajuste por mínimos cuadrados. Hubo que realizar dos series de curvas para cada ácido, debido a que los cromatogramas resultantes de los mostos obtenidos de la prensada, quedaban perfectamente controlados con una sensibilidad del detector de 0.05 AUFS, sin embargo, los cromatogra-

mas de dichos mostos a partir de la fermentación, presentaban picos de gran altura, teniéndose que imponer una sensibilidad de 0.2 AUFS para poder medir las alturas de dichos picos. En la figura 1 se reproducen las curvas obtenidas para cada ácido, se aprecia como las proporciones entre la concentración y altura del pico, de cada especie son diferentes.

Prensada.

Una vez cargada la prensa, se procedía a tomar una 1ª muestra del escurrido o desvinado, es lo que hemos definido como muestra D1. Transcurridos unos 15 min. se tomaba otra muestra que también procedía del desvinado, denominada D2. Cuando comenzaba el 1^{er} ciclo de prensada (aproximadamente a los 30 min.) se tomaba una muestra definida C1 y posteriormente cada 10 min. se procedía a otra toma, hasta un total de 6 muestras en esta 2ª fase ó 1^{er} ciclo. De esta forma tenemos unos muestreos lo suficientemente representativos como para ver el efecto que la presión tiene en la extracción de algunos compuestos de la uva a lo largo de la prensada. Este efecto se puede apreciar en la figura 2, donde presentamos un cromatograma correspondiente al desvinado y otro correspondiente al final de lo hemos denominado 1^{er} ciclo. Vemos como existen picos con alturas apreciables en el desvinado de compuestos no extraídos de las partes sólidas de la uva, que al final de la prensada ya no se extraen tanto, como otros que ahora sí se extraen de las partes sólidas.

En cuanto a la evolución de los ácidos benzoicos en la prensada, como se puede apreciar en la figura 3, el p-hidroxibenzoico no aparece en ningún momento, es decir que apenas se extrae de la uva. En cuanto a los restantes, podemos ver como se mantienen constantes durante el desvinado y la 1ª toma de lo que es el 1^{er} ciclo de prensada (C1), y a partir de este momento comienzan a aportarse al mosto la mayoría de los ácidos, excepto el gálico que permanece inalterado desde el desvinado y el protocatéquico que prácticamente no se ve afectado.

Los ácidos que aumentan su aportación al mosto por efecto de la presión sucesiva, mantienen constante esta aportación hasta aproximadamente los 60 min., comenzando a bajar a partir de este momento. De todas formas esta disminución al final, no llega a ser inferior que los niveles encontrados en el desvinado.

No todos los ácidos benzoicos se aportan de la misma forma al mosto ni en el mismo nivel, siendo el vanílico el que mayoritariamente se aporta al mosto durante la prensada.

Referente a los ácidos cinámicos, podemos apreciar en la figura 4 una notable diferencia en la aportación o extracción de dichos ácidos en el desvinado, el comportamiento no es el mismo que el de los ac. benzoicos. Los ac. p-cumárico y cafeico en el primer muestreo del desvinado su aportación es mayoritaria y sin embargo en el D2 disminuye incluso en el C1, comenzando a incrementar su aportación cuando se comienza con el primer ciclo de prensada, teniendo ya a partir de este momento un comportamiento análogo al de los ácidos benzoicos, apareciendo los máximos rendimientos de la extracción de la uva a los 50 min. Por tanto, estos ácidos son los que se extraen mas facilmente de la uva sin tener que someterse ésta a presiones mu fuertes. El comportamiento de los restantes ácidos es parecido, se aportan poco en el desvinado, aumentando su aportación con las aportaciones sucesivas, al igual que los anteriores, pero no tienen una bajada tan pronunciada como cafeico y p-cumárico en los muestreos finales, excepto el sinápico que es el presenta la bajada mas pronunciada.

Estos datos pueden servir para controlar el tratamiento mecánico anterior al de la prensada, al que se somete la uva, por ejemplo, desde que se corta de la cepa en la viña hasta que finalmente se carga en la prensa. Esto en algún momento determinado puede ser muy importante, puesto que hemos visto como existian compuestos que se extraian muy facilmente de la uva y que por ejemplo, en una defectuosa manipulación de la uva antes de prensarse se pueden perder compuestos que posteriormente podian participar de alguna forma en mejorar alguna característica del vino.

Desfangado.

Los mostos aprovechables para fino, resultantes de la prensada analizada anteriormente, se fueron pasando al depósito de desfangado, llenándose dicho depósito con mostos procedentes de las prensas necesarias, con el mismo tipo y procedencia de la uva estudiada.

Dicho depósito de desfangado se dejó decantar 12 horas y antes de trasegarlo a los depósitos de fermentación, se tomaron distintas muestras a diferentes alturas del depósito, con idea de estudiar el comportamiento de dichos ácidos en el desfangado. Se llevaron a cabo tres muestreos, definiéndose los mismos por la altura del depósito a la que fueron realizados, es decir, ALTO; MEDIO Y BAJO.

La evolución de los ácidos benzoicos y cinámicos en el depósito de desfangado puede apreciarse en la figura 5, donde podemos ver como, en general, todos los ácidos según bajamos en el depósito aumentan su aportación. Los ácidos fenólicos, por tanto, sedimentan en el depósito en una proporción aproximada del 40-50%, excepto los ácidos gálico, m-hidroxibenzoico y ferúlico que no se ven afectados por el desfangado. El ac. protocatéquico, a diferencia de los demás, disminuye al bajar en el depósito.

Observamos también, como el p-hidroxibenzoico que no se extrajo en la prensada, aquí aparece en la mitad y en la parte baja del depósito aunque en muy excasa proporción, seguramente se registra aquí porque al sedimentar aumenta su concentración relativa.

Fermentación tumultuosa.

El mosto desfangado estudiado anteriormente, se traspasó a un depósito vertical de acero inoxidable, donde se dejó reposar para que efectuara su fermentación. La fermentación se esperó sin adicionar pie de cuba y diariamente desde que se realizó el trasiego del desfangado, se llevó a cabo un muestreo a la misma hora. La fermentación tuvo lugar en el 4º día, no obstante hemos seguido este estudio hasta 10 días después. Este estudio nos permitió el notable efecto de la fermentación sobre los compuestos polifenólicos, obteniéndose cromatogramas (Fig. 6) con picos que llegaron a saturar la escala de registro a la sensibilidad de 0.05 AUFS que hasta ese momento venía siendo impuesta en el detector. El aumento de las alturas de los picos fue tal que hubo que imponer una nueva sensibilidad de 0.2 AUFS como ya hemos mencionado anteriormente.

El comportamiento de los ácidos benzoicos durante la fermentación, se refleja en la figura 7, en la que observamos una evolución prácticamente idéntica en todos los ácidos, encontrándose un máximo el día fuerte de la fermentación, volviendo después a su nivel inicial. Vemos como los ac. mayormente aportados son vanílico y sirínico.

El mayor contenido de ácidos en la fermentación se debe seguramente a que los ácidos en el mosto están mayoritariamente en estado combinado en forma de ésteres y con la fermentación se hidrolizan aportando ácidos libres al medio, en cuanto al máximo encontrado en el día fuerte de la fermentación posiblemente sea debido a que durante los días anteriores han ido sedimentando en el depósito y al darse la fermentación los sedimentos pasan de nuevo a suspensión. Los ácidos que habían sedimentado vuelven a aparecer así nuevamente el día del muestreo.

Existen algunos ácidos que se comportan de forma muy diferente en este período, concretamente el m-hidroxibenzoico y el p-hidroxibenzoico. El m-hidroxibenzoico tiene una evolución con una serie de cambios a lo largo de este periodo, un tanto brusca, siendo su aportación al medio mucho mas notable que el resto de los ácidos. En el caso del p-hidroxibenzoico ocurría algo parecido, aunque a veces el pico correspondiente a dicho ácido al aumentar fuertemente su altura, solapaba con picos adyacentes, por lo que a lo largo de este periodo, la resolución de este pico no resultaba totalmente perfecta, no obstante, hay que hacer notar que su nivel era bastante alto en algunos muestreos.

Respecto a la evolución de los ácidos cinámicos, como puede verse en la figura 8, es muy parecida a la de los benzoicos excepto que estos tienen una subida al final desde el 8º al 10º día, si bien esta subida, tan solo se observa en el cafeico y 3,4,5-trimetoxicinámico.

El comportamiento de los ac. p-cumárico, sinápico y ferúlico es muy significativo, siendo los que menos aportan en el día fuerte de la fermentación y los que desde el 1^{er} día descienden encontrándose en niveles mas bajos incluso al final de estos 10 días, no aumentando como hacen los otros. Este comportamiento y el de los ac. benzoicos, p-hidroxibenzoico, siríngico y vanílicico que eran los que poseían el nivel mas alto el día fuerte de la fermentación, permiten confirmar la hipótesis de que los ac. benzoicos en gran parte provienen de una degradación de los ac. cinámicos por hidrólisis y calor, cuando se manipula la uva. Concretamente los ac. p-hidrobenzoico, siríngico y vanílicico provienen respectivamente de los ac. p-cumárico, sinápico y ferúlico, de ahí el bajo nivel de éstos en la fermentación, ya que en estos momentos se dan las circunstancias mas propicias para que se produzca tal degradación.

Mosto fermentado (Antes del deslio).

Transcurridos los 10 días del estudio anterior, se procedió a un seguimiento semanal del depósito en estudio, que ahora se traspasó a un depósito horizontal tambien de acero inoxidable. El seguimiento se llevó a cabo hasta la semana en la que se efectuó el deslio-encabezado, lo que ocurrió en la duodécima semana, tomándose una muestra el día en que se iba a realizar el deslio.

La variación de los ac. benzoicos en este periodo se encuentra en la figura 9, donde se aprecia una variación parecida en casi todos los ácidos, con la particularidad de que al final de las 12 semanas los conte

nidos han disminuido en una pequeña proporción. Se observa una bajada brusca en todos los ácidos en la 6ª semana.

Nuevamente los ac. p-hidroxibenzoico y m-hidroxibenzoico, tienen un comportamiento singular y muy diferente a los demás, teniendo una subida fuerte para el m-hidroxibenzoico en la 4ª semana y posteriormente descienden los dos ácidos desde la 6ª semana manteniéndose muy bajos, desapareciendo el p-hidroxibenzoico en la semana 11.

Respecto a la variación de los ac. cinámicos (Fig. 10), se mantiene la tónica general de que los ac. p-cumárico, sinápico y ferúlico, se mantienen muy bajos y prácticamente inalterados, excepto para el sinápico que llega a desaparecer de los cromatogramas en la 6ª semana, en la que a partir de ésta se tenía una notable subida del siríngico, por lo que se vuelve a apreciar la relación desaparición o disminución de un cinámico (sinápico) por degradación, con el aumento del benzoico correspondiente (siríngico).

Los ácidos cinámicos restantes siguen una variación prácticamente idéntica a la de los ac. benzoicos con una disminución global al final de este periodo.

Antes de la formación del velo.

Una vez realizado el deslio-encabezado se procedió a tomar una muestra ese día y se prosiguió el muestreo semanalmente hasta que se formó el velo en su totalidad hecho que ocurrió transcurridas 21 semanas desde la fermentación tumultuosa del mosto.

El comportamiento de los ac. benzoicos en este periodo se refleja en la figura 11, en la que se aprecia una evolución idéntica para todos los ácidos y que globalmente se resume en una subida al final de este periodo para todos, siendo mayor para el siríngico.

Nuevamente el m-hidroxibenzoico tiene un comportamiento distinto, con subidas y bajadas bruscas a partir de la semana 15. Se encontró en este periodo, la reaparición del p-hidroxibenzoico en la semana 19, posiblemente debido a las levaduras del velo.

Y, finalmente, tenemos que la variación de los ac. cinámicos (Fig. 12), es de forma similar a los benzoicos aumentando al final de este periodo de estudio. Respecto a los ac. ferúlico y p-cumárico siguen manteniéndose muy bajo su nivel, aunque parece apreciarse una ligera tendencia a aumentar su concentración. El ac. sinápico que desapareció en la semana 6ª no vuelve a aparecer al menos en este periodo de estudio.

CONCLUSIONES.

- 1ª Los ac. cinámicos se extraen mas fácilmente de la uva y en particular el p-cumárico y cafeico que pasan al mosto sin someterlos a presión, es decir, durante el desvinado. Los ac. benzoicos, gálico y p-hidroxibenzoico no se han encontrado en el mosto procedente de la prensada.
- 2ª Con el desfangado la mayoría de los ácidos fenólicos sedimentan quedando el mosto limpio de éstos en un 40-50%.
- 3ª El día de comienzo de la fermentación se tiene un aumento brusco de los ácidos, volviendo a bajar, aunque el contenido de éstos han aumentado respecto a la prensada. Los ac. p-cumárico, ferúlico y sinápico disminuyen durante la fermentación, aumentando por otro lado los ac. benzoicos correspondientes, p-hidroxibenzoico, vanílico y siríngico, proviniendo éstos en parte por la degradación de aquellos.
- 4ª Después de la fermentación tumultuosa y hasta el deslio (12 semanas) todos los ácidos fenólicos bajan globalmente en su contenido, siendo los niveles mas bajos para p-cumárico, ferúlico y sinápico, posiblemente por la degradación mencionada anteriormente. Una observación efectuada es el aumento del ac. gálico posiblemente por hidrólisis de los taninos.
- 5ª Una vez realizado el deslio y encabezado todos los ácidos fenólicos mantienen un pequeño aumento hasta la semana 18 en la que y a partir de ésta, el aumento comienza a ser mas notable. Esta apreciación ocurre precisamente cuando comenzó a formarse el velo y hasta la formación del velo total, se mantiene el aumento progresivo de los ácidos fenólicos por efecto de las levaduras en flor.
- 6ª De todas las experiencias se puede concluir que este método analítico, puede dar una información específica de los compuestos polifenólicos en todo momento de la vida de un vino. Este método puede permitir la realización de controles sobre posibles cambios que se desee introducir en la elaboración de un vino, por ejemplo: tratamiento mecánico de la uva; selección de mostos obtenidos a presiones determinadas, evitar ciertos compuestos de la uva o garantizar la extracción a un nivel deseado, de otros compuestos de la uva. Se puede tener información específica de la limpieza de los mostos en el desfangado y esto se puede estrapolar a operaciones tales como filtración, clarificación, etc. En definitiva, con esta metodología se pueden controlar todos los procesos de la elaboración del vino, así como, las alteraciones que tengan lugar en la vida del mismo.

BIBLIOGRAFIA

- (1).- C. GARCIA BARROSO; R.CELA;J.A.PEREZ-BUSTAMANTE; II Jornadas Universitarias sobre el Jerez, Cádiz, Mayo, 1982.
- (2).- C. GARCIA BARROSO; R. CELA TORRIJOS; J.A. PEREZ-BUSTAMANTE; Chromatographia, 17, 249 (1983).
- (3).- D.A. GUILLEN; R.CELA; C.G.BARROSO; J.A.PEREZ-BUSTAMANTE; III Jornadas Universitarias sobre el Jerez, Cádiz, Mayo, 1984.
- (4).- CARMELO G. BARROSO; R.CELA;J.A.PEREZ-BUSTAMANTE; VI Jornadas de Viticultura y Enología de Tierra de Barros, Almendralejo, Mayo, 1984.

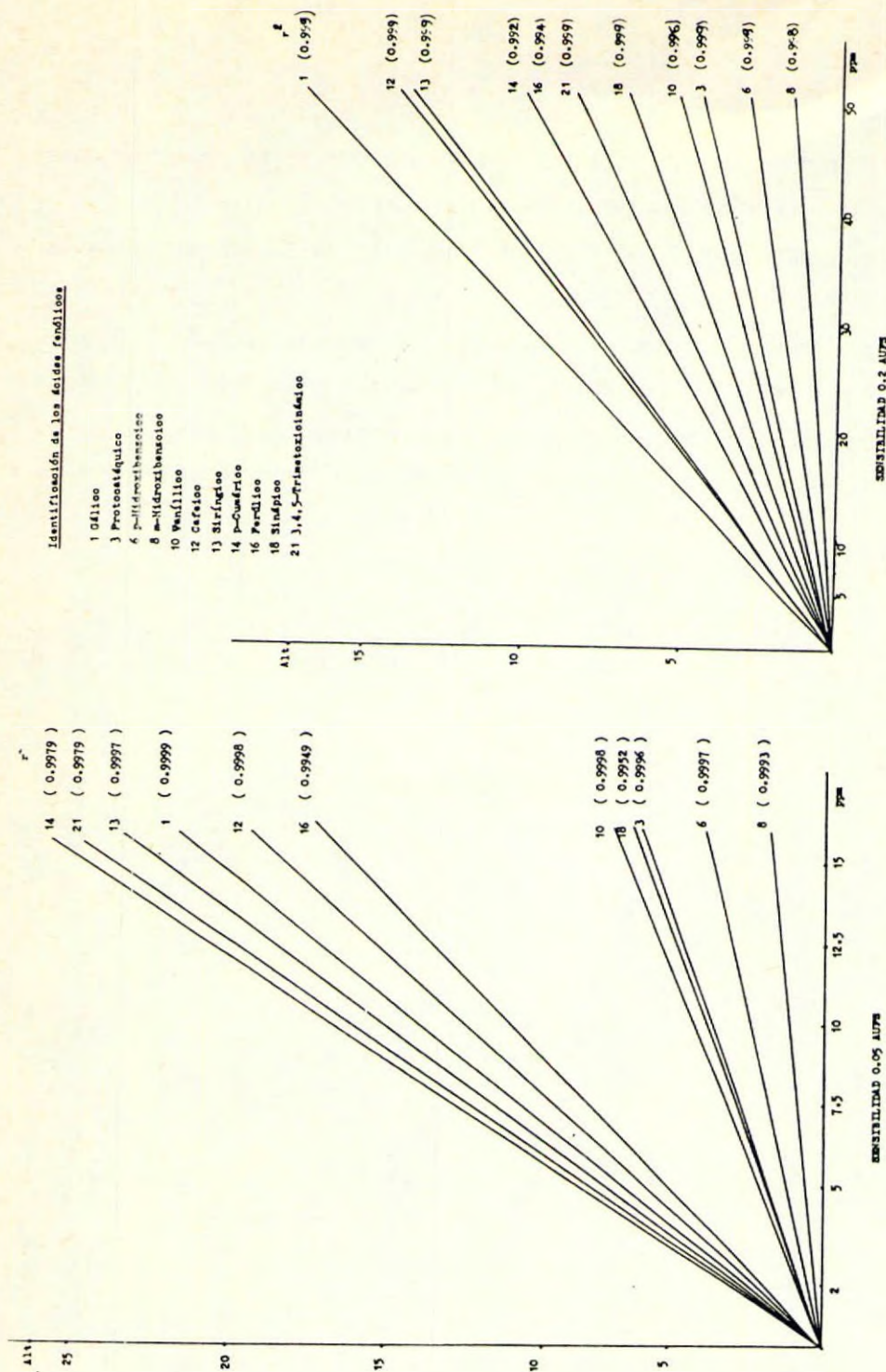


Fig.1 Curvas de calibrado de los ac. fenólicos

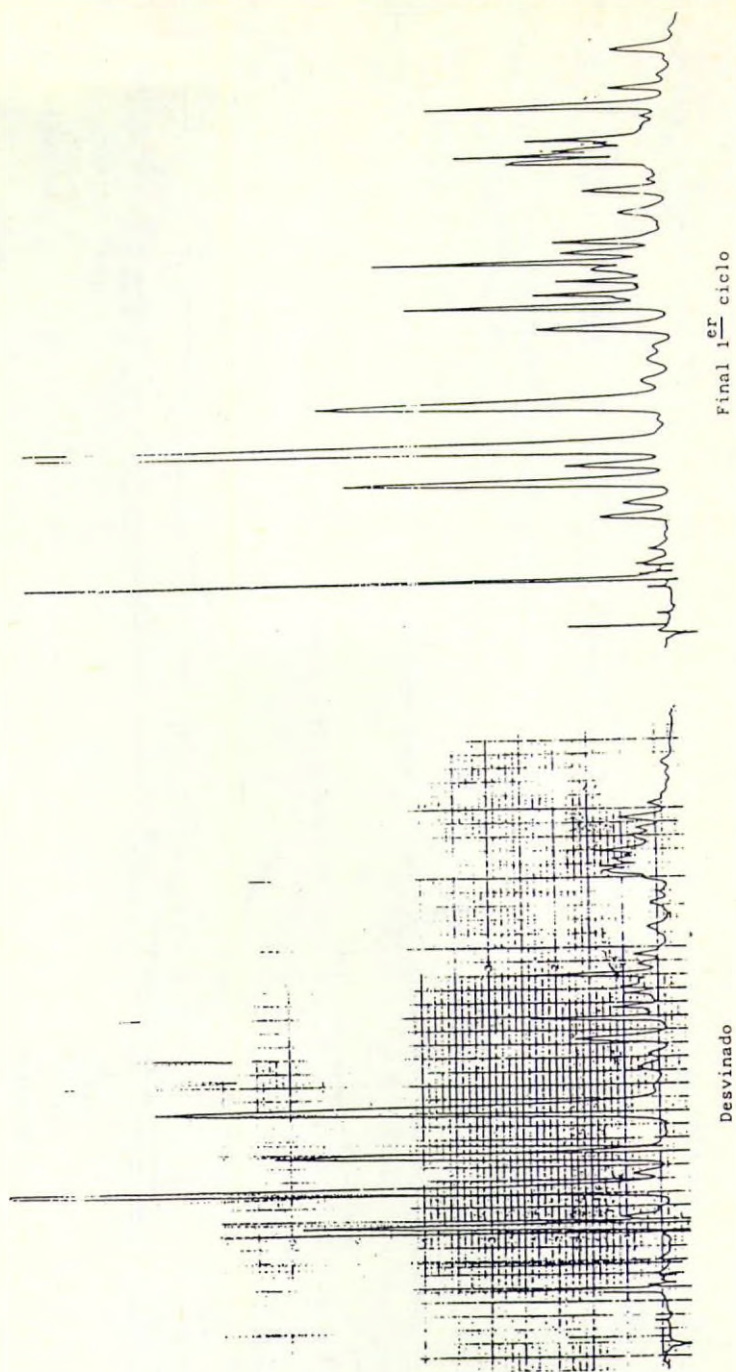


Fig.2 Efecto de la presión en la extracción del mosto

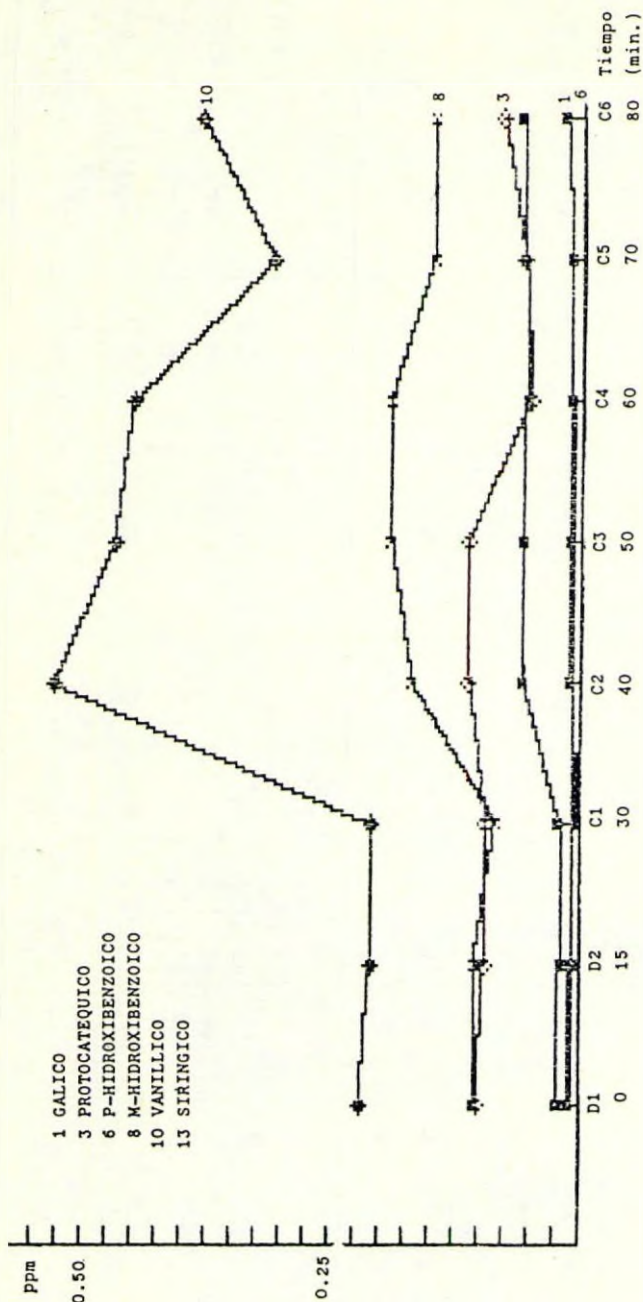


Fig.3 EVOLUCION DE AC. BENZOICOS DEL MOSTO DURANTE EL PROCESO DE PRENSADA

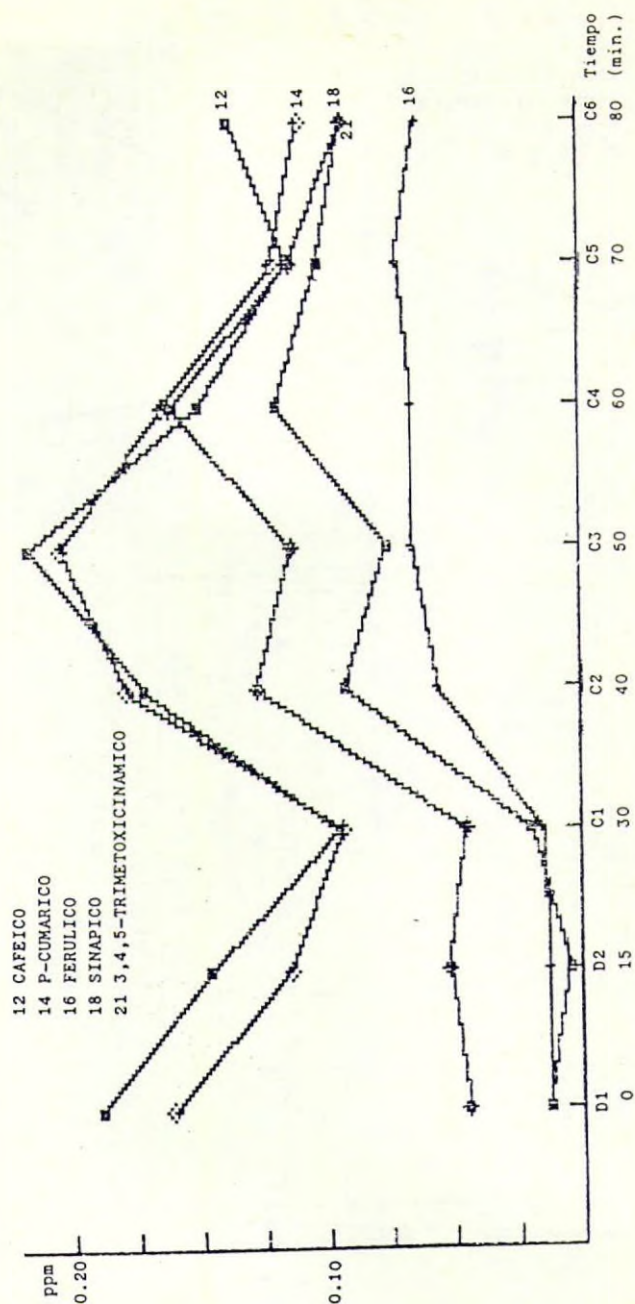


Fig.4 EVOLUCION DE AC. CINAMICOS DEL MOSTO DURANTE EL PROCESO DE PRENSADA

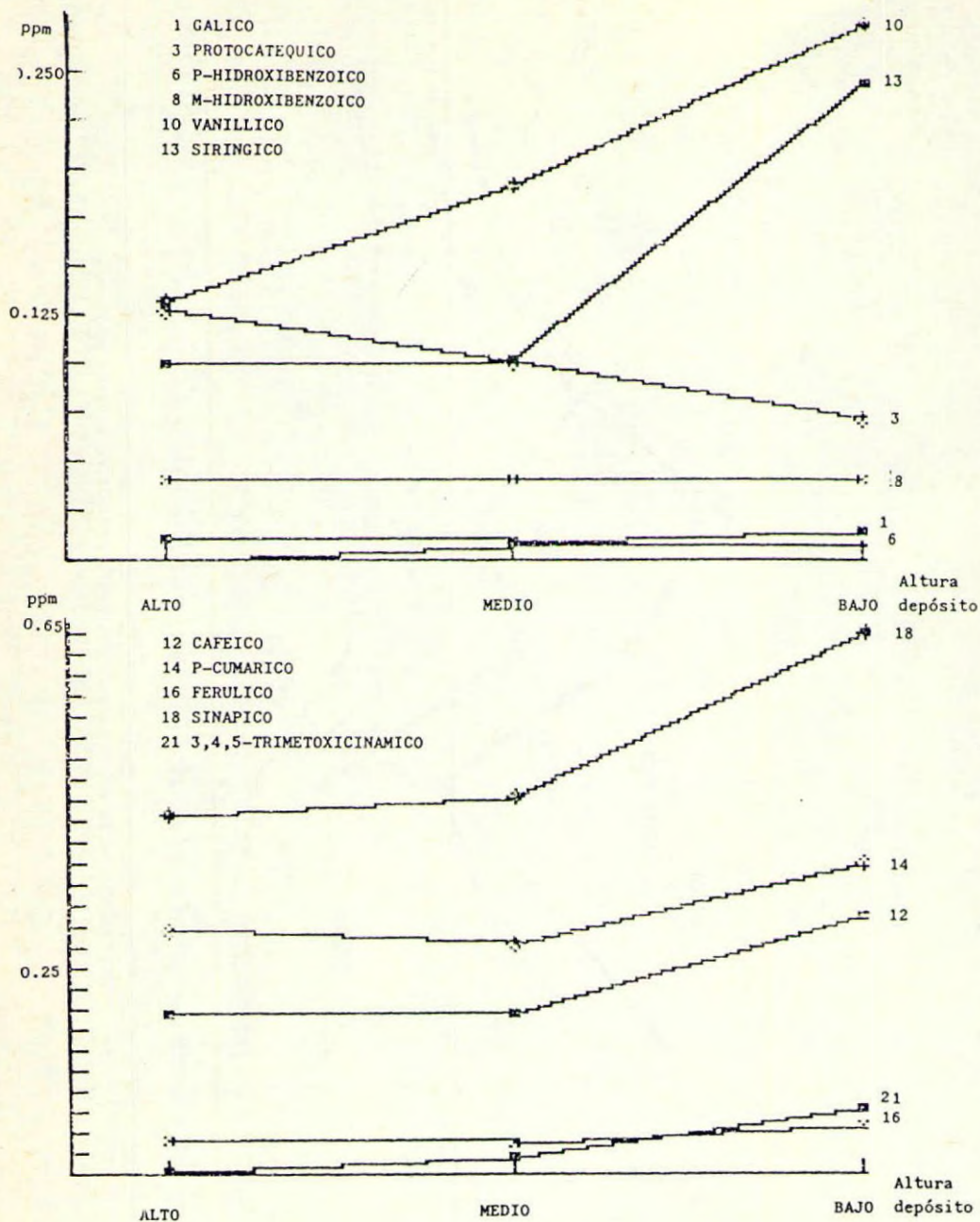


Fig. 5 EVOLUCION DE AC. FENOLICOS DEL MOSTO EN EL DEPOSITO DE DESFANGADO

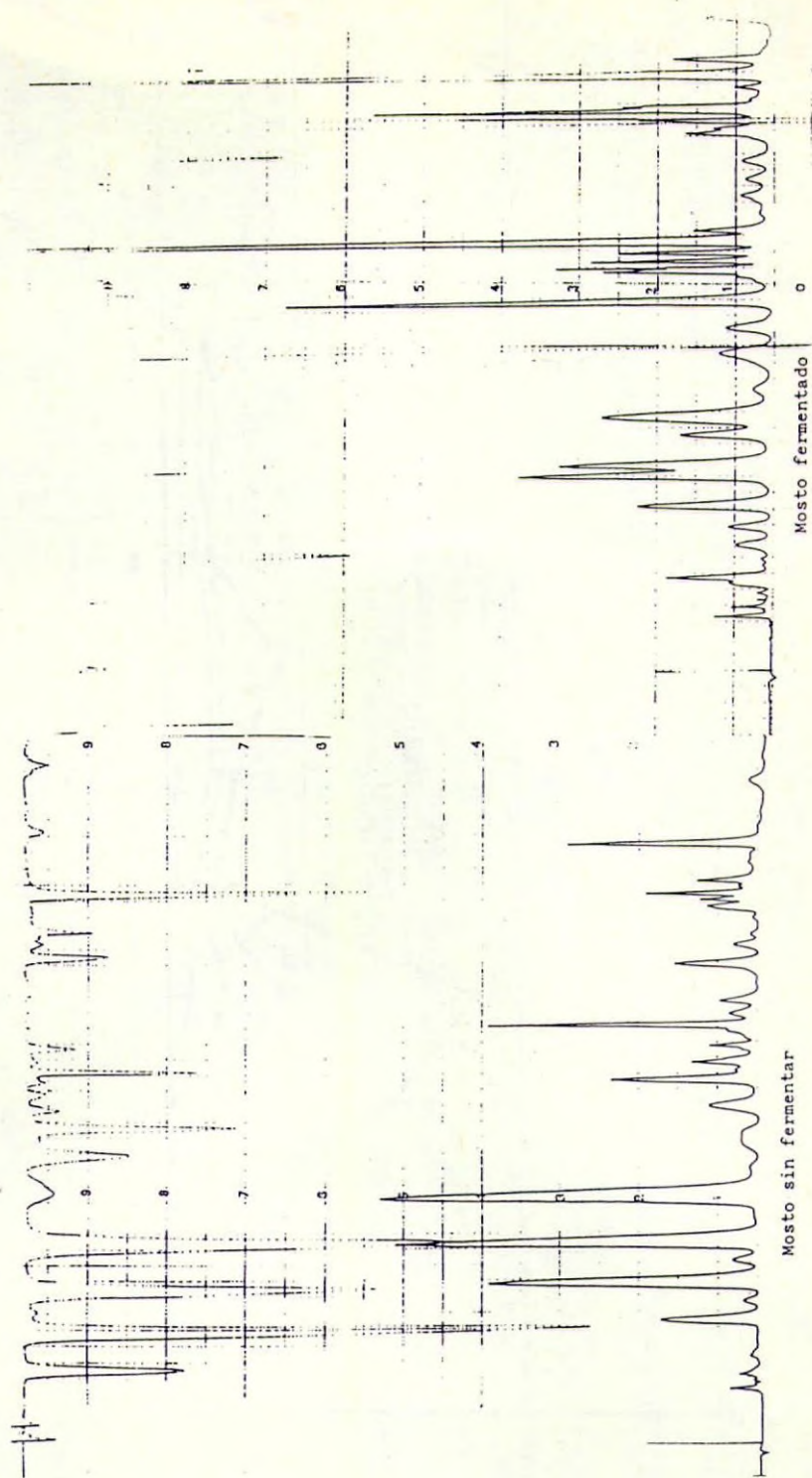


Fig.6 EFECTO DE LA FERMENTACION EN LOS COMPUESTOS POLIFENOLICOS

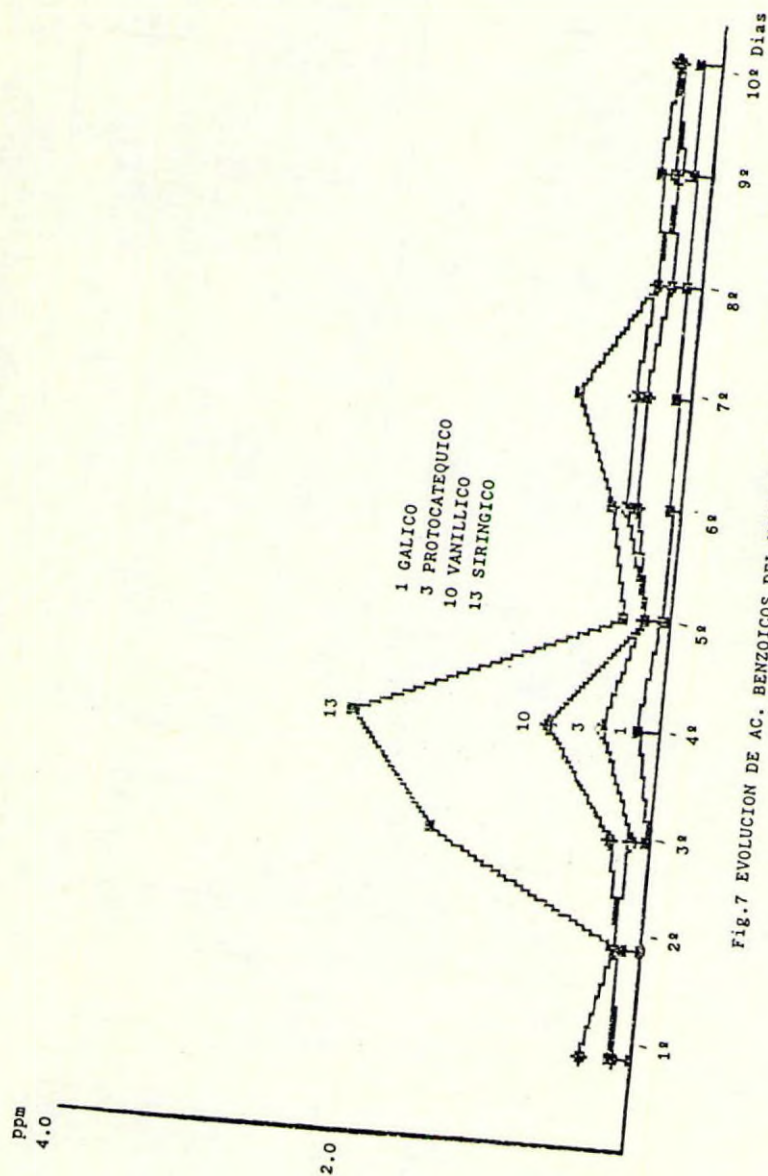


Fig.7 EVOLUCION DE AC. BENZOICOS DEL MOSTO DURANTE LA FERMENTACION TUMULTUOSA

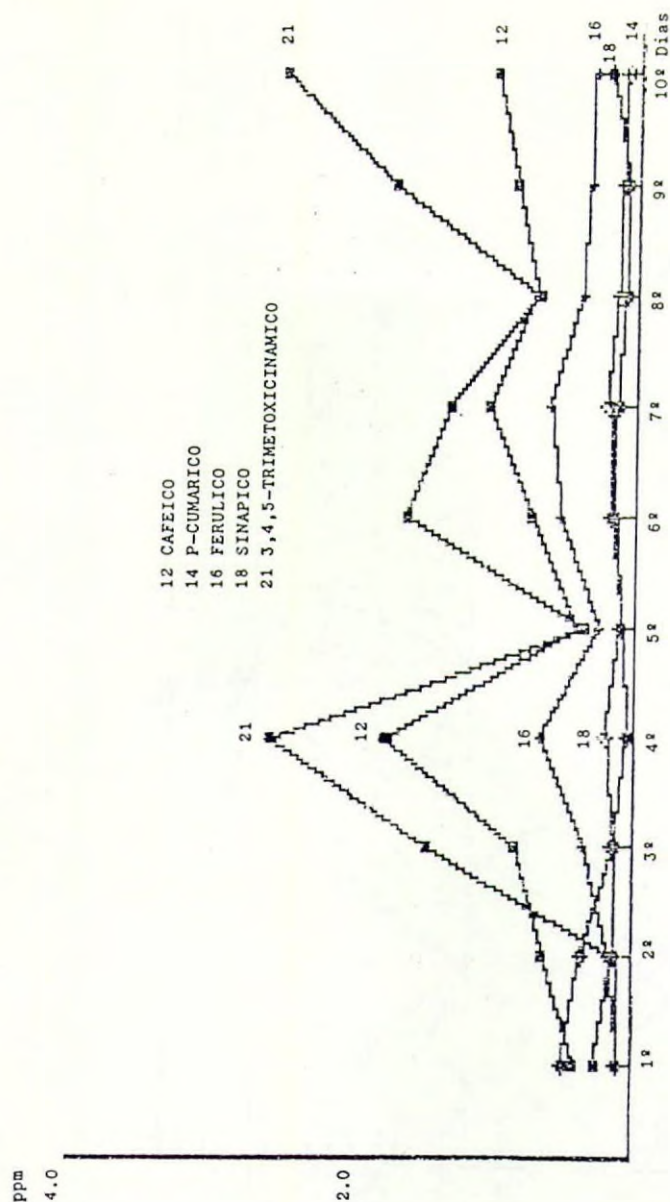


Fig. 8 EVOLUCION DE AC. CINAMICOS DEL MOSTO DURANTE LA FERMENTACION TUMULTUOSA



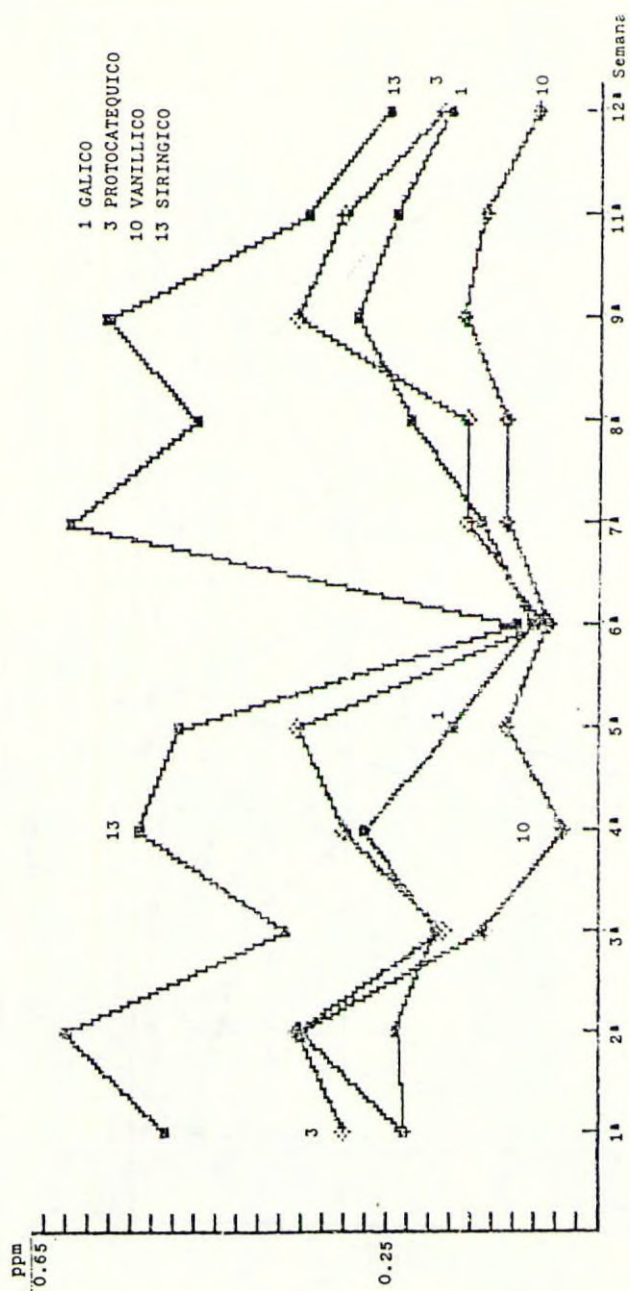


Fig.9 EVOLUCION DE AC. BENZOICOS DEL MOSTO FERMENTADO ANTES DEL DESLIO

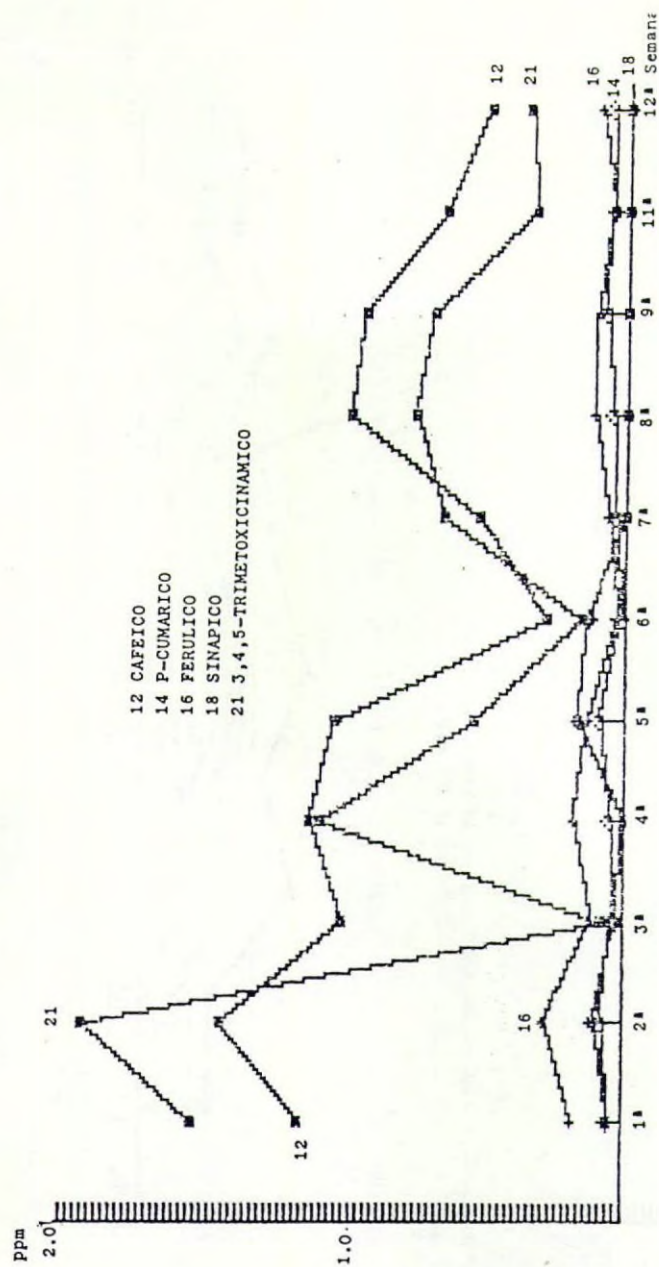


Fig.10 EVOLUCION DE AC. CINAMICOS DEL MOSTO FERMENTADO ANTES DEL DESLIO

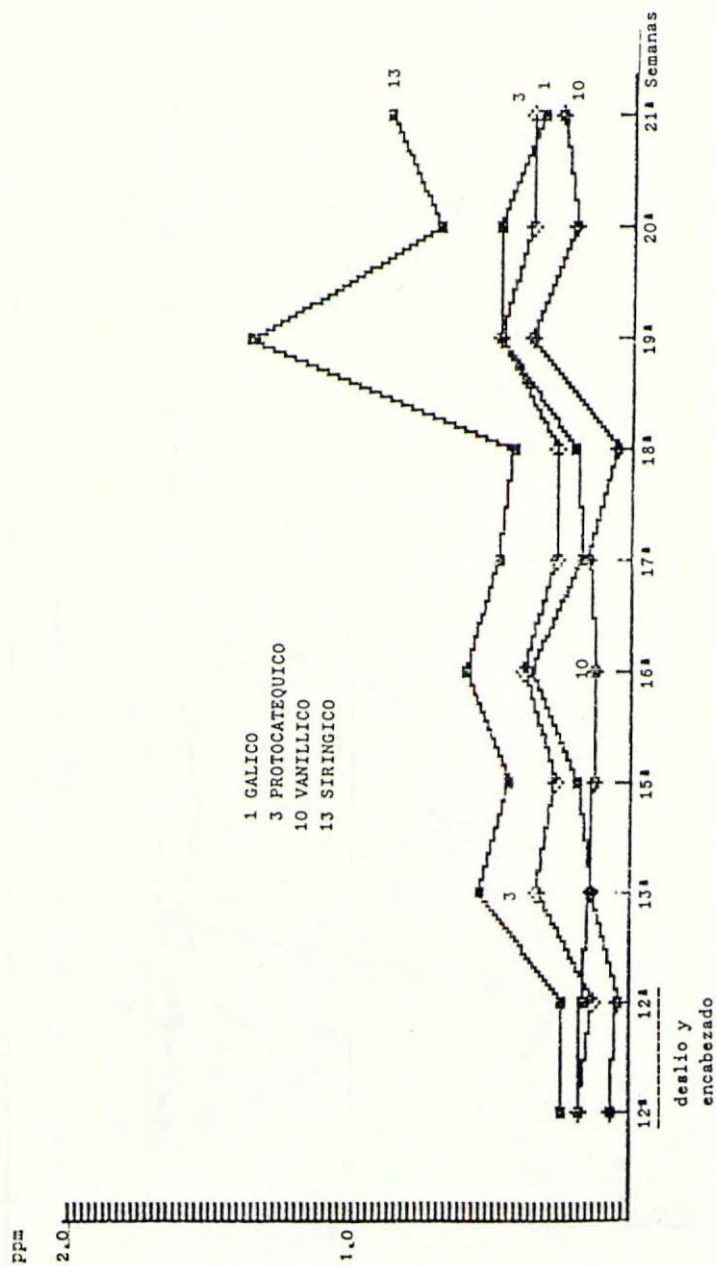


Fig.11 EVOLUCION DE AC. BENZOICOS DEL VINO ANTES DE LA FORMACION TOTAL DEL "VELO"

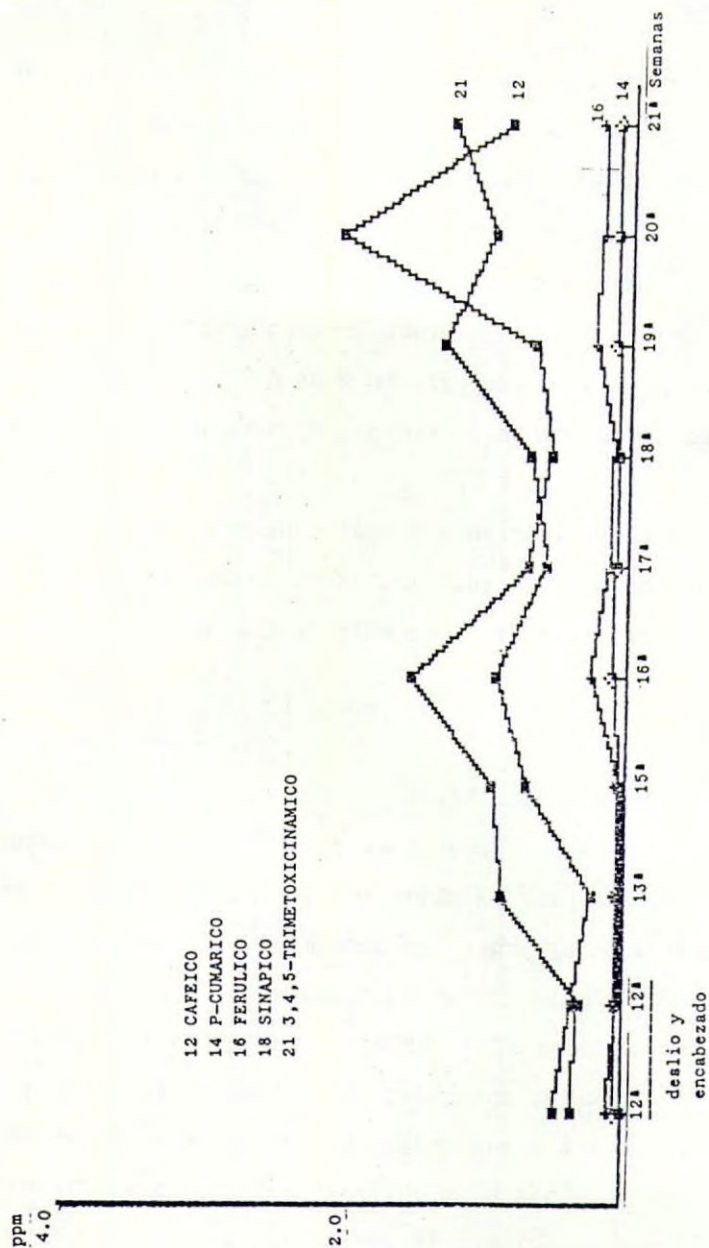


Fig.12 EVOLUCION DE AC. CINAMICOS DEL VINO ANTES DE LA FORMACION TOTAL DEL "VELO"

SOLUCIONES A LA PROBLEMÁTICA DE VERTIDOS DE VINAZAS

Valcárcel Muñoz, M.J., Pérez Rodríguez, L., Sales Márquez, D.

Departamento de Química Técnica. Facultad de Ciencias. Universidad de Cádiz.

RESUMEN

En la presente comunicación se exponen los resultados obtenidos al aplicar diferentes tratamientos de depuración a estos vertidos, contemplando la posible utilización de los efluentes obtenidos y la recuperación de algunos subproductos.

Dichas técnicas fueron:

- Tratamientos físico-químicos. Precipitación de sustancias orgánicas y la posterior eliminación de los sólidos en suspensión formados, tanto en vinazas de vino como en vinazas de lías.
- Tratamientos biológicos. Estudiándose la acción que sobre las vinazas de vino efectúan las microfloras responsables de las digestiones anaerobia y aerobia, comparándose ambos resultados.

INTRODUCCION

En el proceso de vinificación se obtienen una serie de subproductos (orujo, lías, vinos de prensa,...), utilizados como materia prima en las destilerías para la obtención de alcohol vínico; alcohol que puede ser empleado en el propio proceso de vinificación, así como en la elaboración de brandies y aguardientes.

La Administración española obliga a las empresas vinícolas a la entrega de un porcentaje, en grados absolutos, de la riqueza alcohólica de los vinos, mostos y/o mistelas que se van a elaborar en cada campaña (1). Este porcentaje se obtiene mediante la destilación de los subproductos de vinificación y de los caldos de menor graduación, lo-

grándose de forma indirecta la selección del producto.

Además de la destilación de estos subproductos, en algunas comarcas españolas un importante volumen de sus producciones vinícolas se emplean en la obtención de alcohol.

Como consecuencia de la importante producción vinícola española, y dado que un porcentaje de ella se emplea para la obtención de alcohol, se produce un volumen considerable de vinazas, cuyo vertido provoca graves problemas.

Las vinazas procedentes de la destilación de vinos y de sus subproductos muestran características diferentes.

Las vinazas de vino presentan una composición similar a la del vino, en cantidades superiores como consecuencia del fenómeno de concentración que tiene lugar en la destilación. La D.Q.O. de estas vinazas oscila entre 18 y 25 gO_2/l (2), encontrándose entre sus componentes mayoritarios la glicerina, los ácidos orgánicos (tartárico, málico y/o láctico), polifenoles, azúcares residuales,... Los niveles de materia en suspensión son bajos (menos de 1 g/l) (3,4).

Las vinazas de piquetas, obtenidas de la destilación de piquetas (extracción con agua del alcohol existente en el orujo fermentado) presentan valores de D.Q.O. que oscilan entre 15 y 40 gO_2/l (1,5).

Las vinazas de lías presentan una elevada cantidad de materia en suspensión, principalmente debidas a las levaduras y al bitartrato potásico que precipitan durante la fermentación (2). Los valores de DQO oscilan en un amplio rango, dado que dependiendo del sistema de destilación que se emplee, las lías son diluidas con agua en mayor o menor proporción. La D.Q.O. soluble suele oscilar entre 12 y 20 gO_2/l (5).

Como puede observarse, independientemente del tipo de vinazas que se produce, los valores de D.Q.O. son elevados.

En la presente comunicación se exponen los resultados obtenidos de la aplicación de diferentes técnicas de depuración, abordándose la

eliminación de la carga contaminante que se produce y la posible recuperación de subproductos allí donde sea rentable y factible.

Los tratamientos de depuración empleados han sido de tipo físico-químico y microbiológicos (depuración anaerobia y aerobia).

TRATAMIENTOS FISICO-QUIMICOS

La elección de un tratamiento físico-químico adecuado depende de las características que presenten las sustancias a depurar.

En los diferentes ensayos realizados se han utilizado vinazas de vino y vinazas de lías, y dada las características de ambos se le han aplicado las siguientes técnicas:

- Vinazas de vino. Precipitación con Ca(OH)_2 , y centrifugación de los sólidos en suspensión formados.
- Vinazas de lías. Centrifugación de los sólidos en suspensión. Precipitación con Ca(OH)_2 , y centrifugación de los sólidos en suspensión formados.

Los resultados que han sido obtenidos se exponen en las figuras 1 y 2.

Las disminuciones que tienen lugar en los valores de D.Q.O. y de sólidos (totales y orgánicos) están reflejados en el figura 1.

En ella se aprecia que la D.Q.O. sufre una disminución importante al centrifugarse las vinazas de lías, dado que se eliminan del medio los sólidos en suspensión.

Estos sólidos en suspensión son en un 80 % de naturaleza orgánica, y están constituidos de un 10-12 % por ácido tartárico y de un 12 al 15 % de materia proteica, lo que hace a este lodo útil para la recuperación de ácido tartárico y como complemento de la alimentación animal (6).

Las vinazas de vino y las vinazas de lías centrifugadas no muestran descensos importantes en los valores de D.Q.O. al aumentar el pH, obteniéndose para efluentes con un pH = 12,5 del 20-25 % de eliminación.

De igual forma ocurre con los sólidos totales, donde la disminución en sus valores al aumentar el pH se mínima, pero observándose que existe un aumento en el porcentaje de sólidos inorgánicos.

Los valores encontrados de ácido tartárico y de nitrógeno total, en las vinazas y en los efluentes, aparecen en la figura 2.

En ella se aprecia que el 65 % del ácido tartárico y el 90 % del nitrógeno total de las vinazas de lías se encuentran en suspensión, su poniendo su centrifugación una eliminación superior a la que se obtiene al elevar el pH. El ácido tartárico soluble precipita en forma de tartrato cálcico.

La disminución producida en los valores de nitrógeno total en las vinazas de lías al elevar el pH, no son importantes y atribuibles a la precipitación o descomposición de sustancias que contengan nitrógeno orgánico, así como por la eliminación del amonio existente en el medio.

A la vista de estos resultados, se observa que la eliminación de los sólidos en suspensión en las vinazas de lías produce una disminución en todos los parámetros estudiados, que oscila entre el 65-90 %. El sobrenadante presenta valores parecidos a las vinazas de vino, pudiendo seguir ambos el mismo tratamiento biológico.

TRATAMIENTOS BIOLOGICOS

Dado que el tratamiento físico-químico no disminuye de forma importante la contaminación producida por las sustancias solubles existentes en las vinazas, se ensayaron la acción que sobre las vinazas de vino ejercían las microfloras responsables de las digestiones anaerobia y aerobia.

La acción de los microorganismos sobre un sustrato presenta aspectos bien diferenciados, donde los más importantes son: la producción de biomasa, la biosíntesis de un metabolito y la eliminación del sustrato.

Los productos finales de ambas depuraciones, anaerobia y aerobia,

así como las condiciones que deben de cumplirse para que estas técnicas puedan llevarse a cabo, son diferentes.

En la depuración aerobia, el vertido se mezcla con grandes cantidades de microorganismos y aire. Los microorganismos utilizan la vinaza como sustrato, empleando el oxígeno disuelto para quemar una porción de este alimento, cuyos productos finales son CO_2 y H_2O , y obtener una energía de oxidación. Energía que permite un rápido crecimiento de la flora, utilizando parte de las sustancias orgánicas solubles en la síntesis de nuevas células. Sin embargo, la elevada cantidad de lodos que se forman no se encuentran estabilizados, necesitando un posterior tratamiento.

En el tratamiento anaerobio, las vinazas son degradadas en ausencia de oxígeno gracias a las interacciones metabólicas de cuatro grupos de bacterias (7,8):

- Bacterias hidrolíticas o fermentativas. Transforman carbohidratos, proteínas, lípidos y otros compuestos minoritarios en ácidos volátiles, H_2 , CO_2 ,...
- Bacterias acetogénicas (reductoras obligadas de protones). Transforman ciertos ácidos volátiles y productos finales neutros en acetato, CO_2 e H_2 .
- Bacterias homoacetogénicas. Sintetizan acetato usando H_2 , CO_2 y formiato.
- Bacterias metanogénicas. Utilizan el acetato, CO_2 e H_2 para producir metano.

El carbono orgánico total existente en la vinaza después de la depuración anaerobia se encuentra del 60-75 % formando parte del biogas, del 10-15 % como CO_3^{2-} o CO_3H^- que constituyen el tampón regulador del medio, en un 10 % como materia en suspensión y en un 5% como carbono orgánico residual, con lo cual la cantidad de lodos que se forman es menor que en la digestión aerobia.

No obstante, las bacterias responsables de la depuración anaero-

bia no se encuentran en las vinazas, lo que conlleva a la obtención y estabilización de la flora metanogénica y la posterior adaptación de esta a las vinazas.

Los resultados obtenidos del empleo de las floras anaerobia y aerobia como microorganismos responsables de la degradación de los compuestos orgánicos existentes en las vinazas, se expresan en las figuras 3, 4 y 5.

En ellas puede observarse que los porcentajes de eliminación de D.Q.O. con ambas floras (figura 3) son similares, y que éstos disminuyen a medida que lo hace el tiempo de retención.

En la digestión anaerobia esta disminución es debida a que el tiempo de retención es menor o similar a la velocidad de regeneración de los microorganismos.

En la fermentación aerobia, los microorganismos necesitan oxígeno para degradar la materia orgánica que se les suministra, una disminución del tiempo de retención supone un mayor caudal de entrada de influente y por tanto una mayor necesidad de oxígeno. Dado que el caudal de suministro de aire (5 l/min dm^3) es siempre el mismo, el oxígeno disuelto del medio disminuye y por tanto los porcentajes de degradación de materia orgánica.

A pesar de realizarse la digestión anaerobia a 35°C , los porcentajes de metano que se obtienen en el biogas (figura 4) compensan las necesidades energéticas para obtener dicha temperatura, siendo energéticamente esta técnica autosuficiente a nivel industrial.

No ocurre igual en la fermentación aerobia, dado que se necesita un consumo eléctrico para suministrar aire al medio.

Las cantidades de lodos que se forman con ambos tratamientos (figura 5), son menores en la digestión anaerobia, dado que existe una importante transformación de los constituyentes de la materia orgánica soluble de las vinazas a compuestos volátiles (CO_2 , CH_4 , NH_3 , ...). Mientras que en la fermentación aerobia la mayor parte de la materia orgá-

nica soluble es utilizada en la síntesis celular, y por tanto se encuentra en suspensión.

Estos lodos procedentes de la fermentación aerobia no se encuentran estabilizados, realizándose generalmente una posterior depuración anaerobia para estabilizarlos.

CONSIDERACIONES FINALES

Del empleo de diferentes técnicas de depuración físico-químicas y microbiológicas sobre las vinazas de vino y lías, se pueden realizar las siguientes consideraciones finales:

- 1.- La eliminación de los sólidos en suspensión existentes en las vinazas de lías, supone una disminución de la D.Q.O. del 80 %, siendo la D.Q.O. soluble del mismo orden a las encontradas en las vinazas de vino.
- 2.- Los sólidos en suspensión existentes en las vinazas de lías contienen un elevado porcentaje de ácido tartárico y materia proteica, pudiendo ser utilizados para la recuperación de ácido tartárico y como complemento de la alimentación animal.
- 3.- El tratamiento físico-químico no disminuye de forma importante la carga orgánica soluble que presentan las vinazas.
- 4.- Las digestiones anaerobia y aerobia dan rendimientos similares con tiempos de retención de 6 a 10 días. No obstante el primero de ellos presenta la ventaja de obtener un biogás, con un 70 % de metano, el cual puede servir para mantener el consumo eléctrico de la instalación.
- 5.- Para tiempos de retención bajos, no es válida la depuración anaerobia, dado que existe un desequilibrio entre la velocidad de regeneración de la flora y su evacuación del digestor.
- 6.- De igual forma para tiempos de retención bajos, la fermentación aerobia presenta el inconveniente de necesitar una ele-

vada cantidad de oxígeno en el medio, para poder degradar las altas D.B.O. que se les suministran.

- 7.- La cantidad de lodos formados en la depuración anaerobia representa del 40-50 % de los que se producen en la fermentación aerobia.

BIBLIOGRAFIA

- (1).- LOPEZ, F.; OVELLEIRO, J.L.- Ingeniería Química 109, 167-178 (1978)
- (2).- VALCARCEL, M.J.; SALES, D.; PEREZ, L.; MARTINEZ DE LA OSSA, E.- Actas II Jornadas Universitarias sobre el Jerez, Cádiz 1982
- (3).- BORIES, A.- Tribune du Cebedeau 411, 75-81 (1978)
- (4).- SALES, D.; VALCARCEL, M.J.; PEREZ, L.; MARTINEZ DE LA OSSA, E.- Química e Industria 28(10), 701-706 (1982)
- (5).- BORIES, A.- Industries Alimentaires et Agricoles 99(4), 215-225 (1982)
- (6).- VALCARCEL, M.J.; SALES, D.; PEREZ, L.; MARTINEZ DE LA OSSA, E.; CARO, I.- Actas del V Congreso Nacional de Química, Tenerife (1983)
- (7).- ZEIKUS, J.B.- First International Symposium on Anaerobic Digestion, Cardiff, Wales (1979)
- (8).- WOLFE, R.S.- Microb. Biochem. 21, 268-300 (1979)

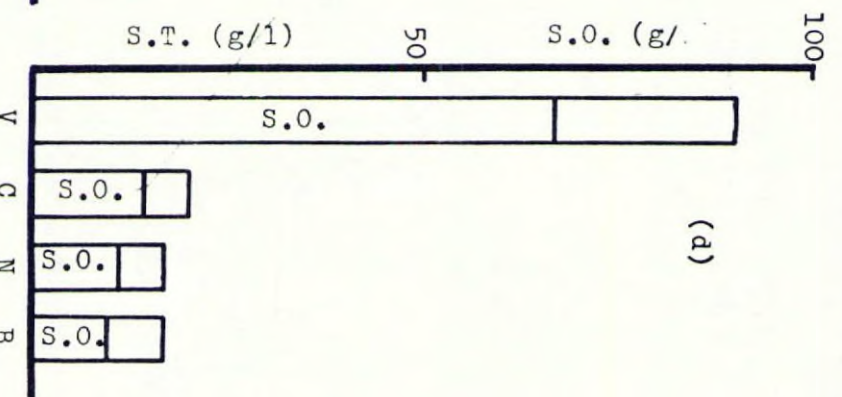
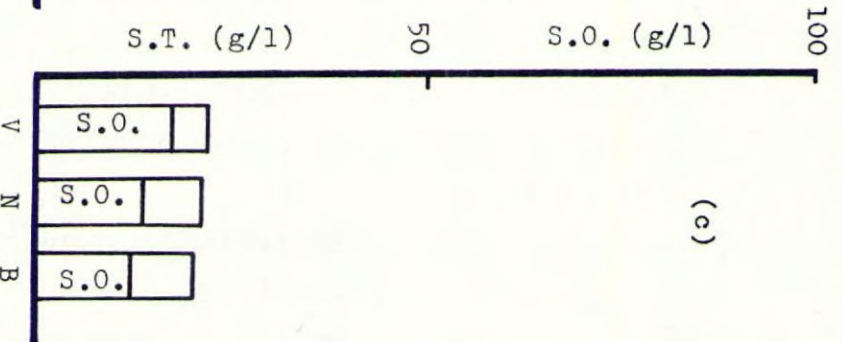
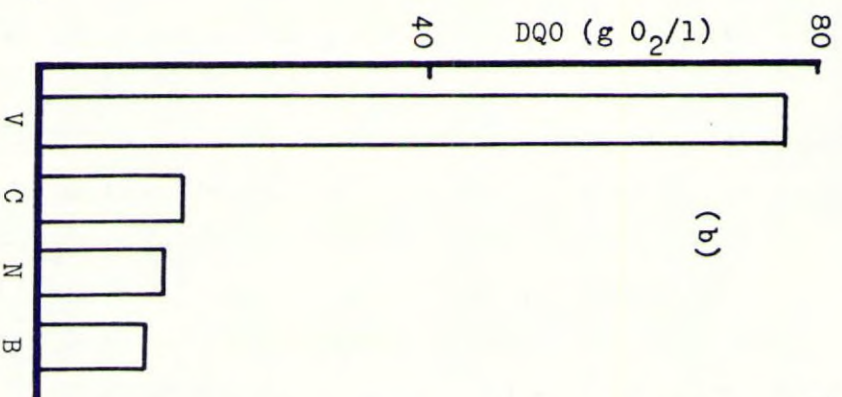
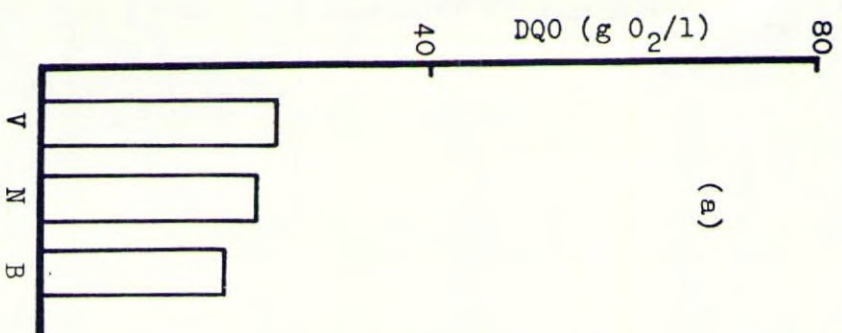


Figura 1.- Valores de (a) DQO en vinazas de vino, (b) DQO en vinazas de lías, (c) sólidos totales (S.T.) y sólidos orgánicos (S.O.) en vinazas de vino, (d) sólidos totales y orgánicos en vinazas de lías, para las vinazas sin tratar (V), para efluentes de vinazas neutralizadas, pH 7 (N), para efluentes de vinazas en medio básico, pH 12.5 (B) y para efluentes de vinazas de lías centrifugadas (C).

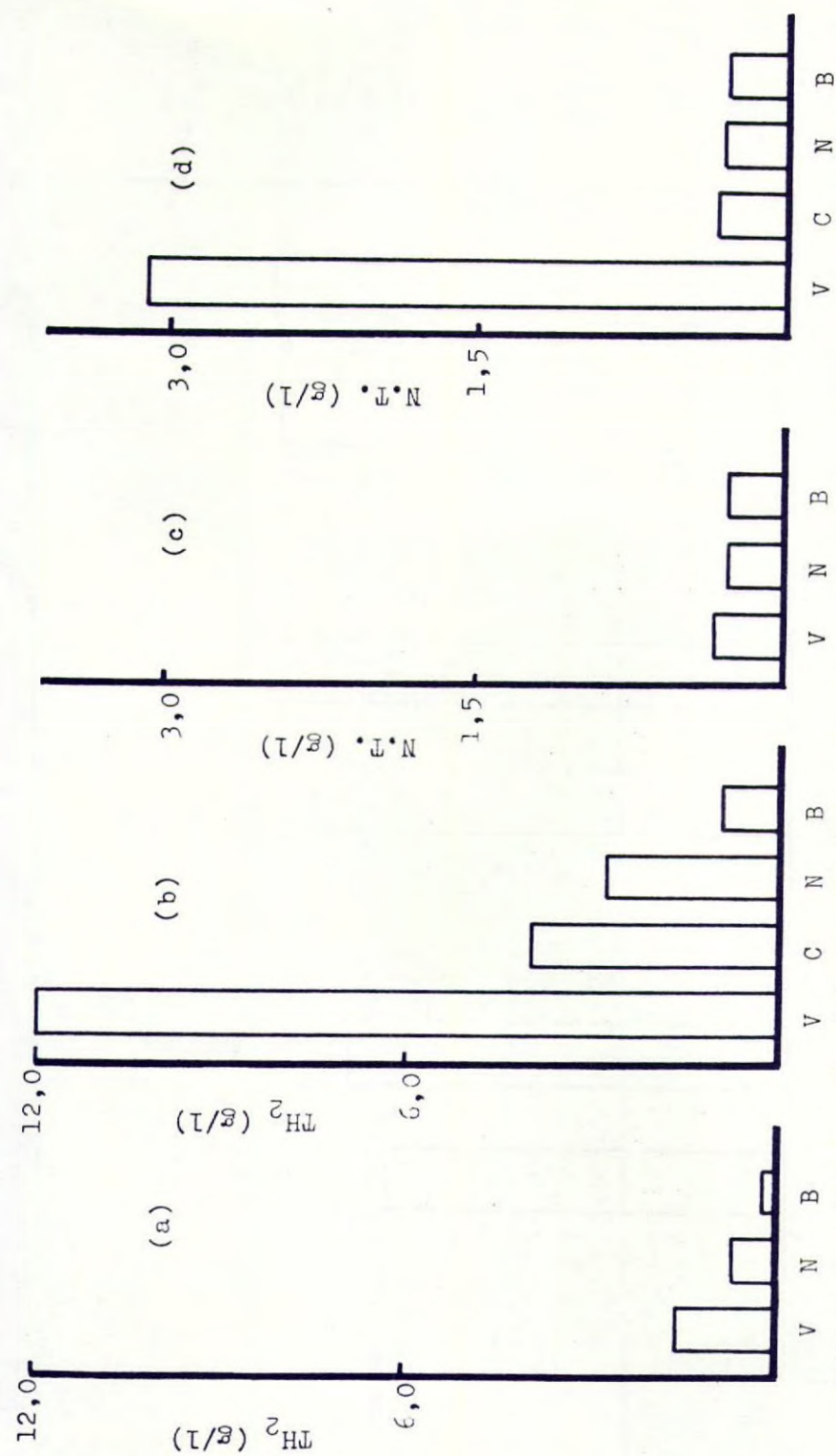
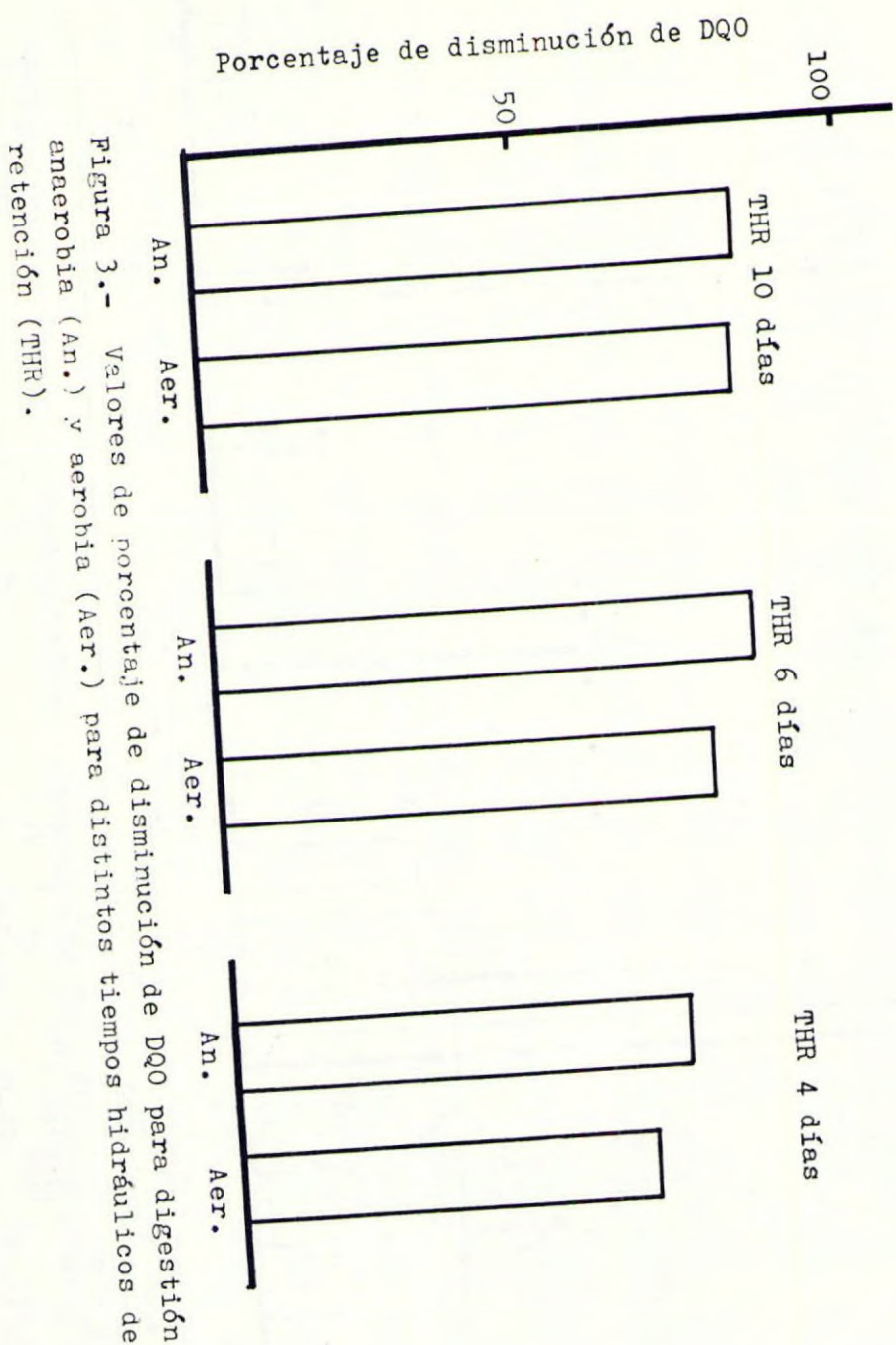


Figura 2.- Valores de (a) a. tartárico (TH_2) en vinazas de vino, (b) a. tartárico en vinazas de lías, (c) nitrógeno total (N.T.) en vinazas de vino, (d) nitrógeno total en vinazas de lías, para las vinazas sin tratar (V), para efluentes de vinazas neutralizadas, pH 7 (N), para efluentes de vinazas en medio básico, pH 12.5 (B) y para efluentes de vinazas de lías centrifugadas (C).



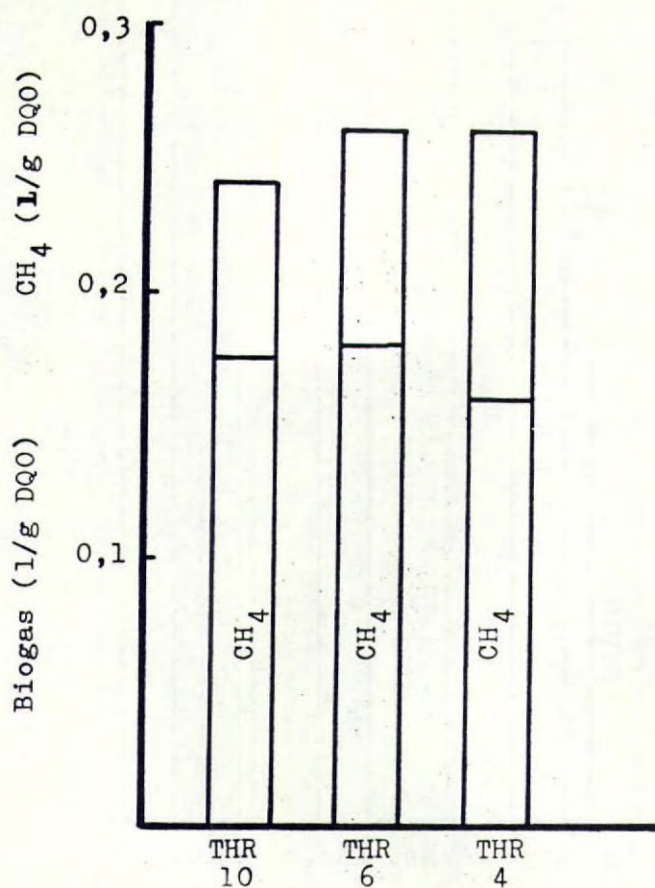


Figura 4.- Litros de biogas y metano producidos por gramo de DQO añadido para distintos tiempos hidráulicos de retención (días).

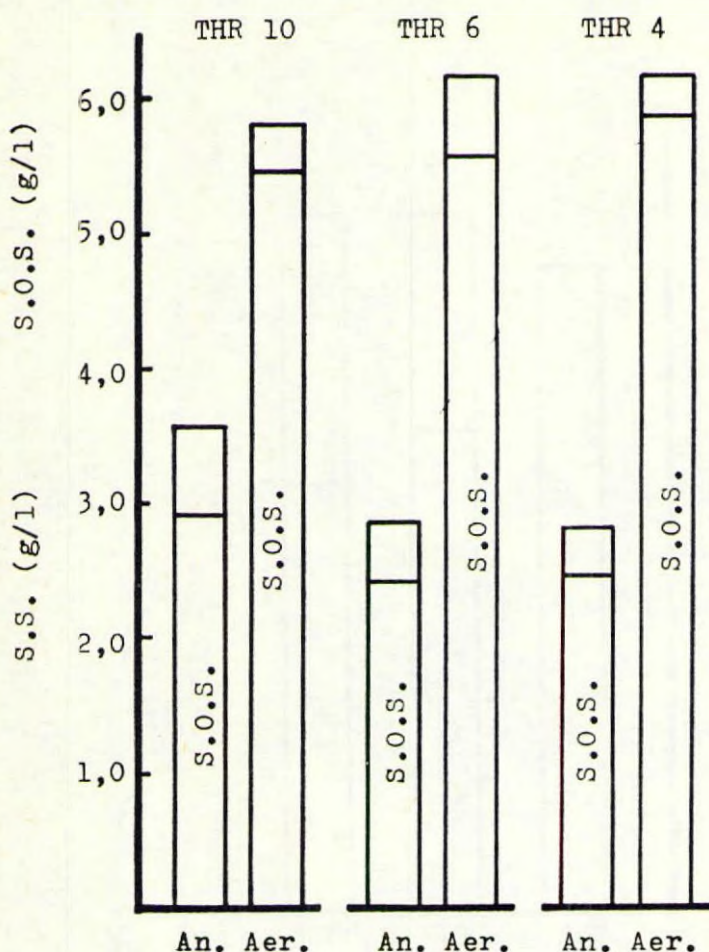


Figura 5.- Sólidos en suspensión (S.S.) y sólidos orgánicos en suspensión (S.O.S.) generados en digestiones anaerobia (An.) y aerobia (Aer.) para distintos tiempos hidráulicos de retención (días).

CONTROL DEL VOLUMEN DE LLENADO EN VINOS Y BRANDIES DE JEREZ

Asencio Rodríguez, A y Domecq Williams, B.

Pedro Domecq S.A.

INTRODUCCION

El contenido efectivo de los productos envasados no ha sido regulado hasta tiempos recientes. Solo preocupaba, y eso en el caso de los más exigentes, conseguir un corte de llenado lo más uniforme posible, de forma que no diese mala imagen que pudiera provocar el rechazo del producto por parte del consumidor.

Esto permitió la picaresca y así era frecuente comprobar la existencia de envases en el mercado cuyo contenido efectivo era inferior a lo previsto por el tipo de botella utilizada (botella de 3/4 con 730 o 700 ml. y botellas de 1/2 con 350 ó 360 ml.). El desarrollo de los países ha llevado consigo mayores exigencias en la calidad de los bienes de consumo, reglamentándose normas que regulan, entre otras condiciones, los volúmenes de los productos envasados.

La economía del jerez depende en gran medida de su exportación, que representa el 90% de la producción de sus vinos, siendo los países de la CEE los principales consumidores de los mismos. Por todo ello es lógico que nuestros productos envasados deban cumplir no solo la normativa nacional sino también la que rija en los países de destino.

En la presente comunicación se exponen las normas actuales nacionales y europeas que regulan los volúmenes de llenado y tolerancias permitidas para los vinos y brandies de Jerez así como las acciones a realizar para cumplir las exigencias de dichas normas.

NORMAS ACTUALES

La normativa actual podemos dividirla en dos apartados:

- Referida a la fabricación del envase
- Referida al llenado del envase

Respecto a la fabricación del envase la normativa española recoge solo las especificaciones de los envases tipo tarro, no existiendo hasta el momento la correspondiente a la fabricación de botellas, que como se sabe es el envase normal para la comercialización de los

productos de Jerez. Por ello haremos referencia solo a lo legislado en el mercado Común, recogido en la Directriz 75/107/CEE, cuyo contenido en esencia es:

INSCRIPCIONES OBLIGATORIAS DE LA BOTELLA ENVASE-MEDIDA

(ORMA 75/107/CEE del 19/12/74)

1.- En la superficie lateral, en el talón o en el fondo

- con una altura de 6 mm. si el volumen es > 100 cl.
- Capacidad con una altura de 4 mm. si el volumen es > 20 cl. y nominal ≤ 100 cl.
- con una altura de 3 mm. si el volumen es ≤ 20 cl.

seguida de la unidad de medida utilizada: litro, centilitro o mililitro, en abreviatura.

- Signo de identificación del fabricante de la botella.
- Epsilon al revés (3), con una altura mínima de 3 mm.

2.- En el fondo o en el talón, con la misma altura que la capacidad, y evitando confusión con las indicaciones anteriores

- Capacidad total a verter, expresada en centilitros, NO seguida de cl.
- Distancia en milímetros del nivel de enrasamiento al nivel de llenado correspondiente a la capacidad nominal, seguida del símbolo mm.

CUADRO nº 1

ERRORES MAXIMOS PERMITIDOS EN VOLUMEN POR EXCESO O POR DEFECTO

(NORMA 75/107/CEE del 19/12/74)

Capacidad nominal en mililitros	Errores máximos tolerados	
	En %	En ml.
De 51 a 100	-	3
De 101 a 200	3	-
De 201 a 300	-	6
De 301 a 500	2	-
De 501 a 1000	-	10
De 1001 a 5000	1	-

CUADRO nº 2

métodos de control de la capacidad.-Existen dos métodos de control:uno por la desviación standard y otro por el recorrido medio,cuyos parámetros describimos en el cuadro siguiente:

CONTROL DE CAPACIDAD EN RECEPCIÓN PARA BOTELLAS ENVASE-MEDIDA
(NORMA 75/107/CEE)

	Método de la desviación standard	Método del recorrido medio
- <u>Muestra:</u>		
Se extraen al azar de diferentes palets del lote....	35 botellas	40 botellas
- <u>Método de medición:</u>		
Por diferencia de pesada o por probetas con agua a 20°C		
- <u>Cálculos:</u>		
. De las capacidades reales obtenidas.....	\bar{X} y	\bar{X}
. De la tabla de errores máximo permitidos.....	Ts, Ti y (Ts-Ti)	Ts, Ti y (Ts-Ti)
. De cada una de las 8 submuestras se sacan los recorridos y la suma de ellos se divide entre ocho...	- -	\bar{R}
- <u>Decisión:</u>		
Se considera aceptable un lote si cumple las tres ecuaciones del método de control que se elija,siendo \bar{K} , K' ,F y F' unas constantes con valores.....	$\bar{X} + K \cdot \sigma \geq Ts$ $\bar{X} - K \cdot \sigma \geq Ti$ $\sigma \leq F (Ts-Ti)$ $K = 1,57$ $F = 0,266$	$\bar{X} + K' \cdot \bar{R} \leq Ts$ $\bar{X} - K' \cdot \bar{R} \geq Ti$ $\bar{R} \leq F' (Ts-Ti)$ $K' = 0,658$ $F' = 0,628$

CUADRO nº 3

Ambos métodos adolecen de permitir una capacidades medias fuera de la nominal,ya sea por exceso como por defecto,siempre que la desviación standard o el recorrido medio no superen la mitad de sus valores máximos permitidos,que son bastante amplios:5,32 y 12,56 respectivamente para el caso de botellas de 501 a 1000 ml.

Asimismo,no está establecido el porcentaje máximo de unidades con volumen fuera de tolerancia.

El segundo apartado,referido al llenado del envase,está ac-

tualmente regulado por la Directriz 79/1005/CEE y por el Real Decreto 2506/83, de 20/9/83, que comporta prácticamente las mismas exigencias ya que el Real Decreto es una transcripción de la norma europea.

Las exigencias básicas de estas normas son:

- Datos del etiquetado.-Independientemente de los datos exigidos por cada país, las inscripciones obligatorias en el etiquetado para la CEE se reflejan en el cuadro siguiente:

INSCRIPCIONES OBLIGATORIAS DEL EMBALAJE (ETIQUETADO)

(NORMA 79/1005/CEE del 23/11/79)

- 1.- Volumen nominal expresado en litro, centilitro o mililitro, seguido del símbolo de la unidad utilizada, y con una altura de:
6 mm. si el volumen es > 100 cl.
4 mm. si el volumen es > 20 cl. y ≤ 100 cl.
3 mm. si el volumen es ≤ 20 cl.
- 2.- Nombre o marca que permita la identificación del embotellador y/o del importador.
- 3.- Letra de conformidad, "e" minúscula, con una altura mínima de 3 mm certificando que el embalaje cumple las prescripciones de esta Norma.

CUADRO nº 4

- Volúmenes permitidos.-Ante el cúmulo de volúmenes existentes, la Comunidad Económica Europea se ha visto obligada a regularlos, reduciendo su número. Para ello ha establecido unos volúmenes determinados, incluidos en la columna I del cuadro siguiente y que serán los finalmente admitidos, cuando pase el período lógico de adaptación de los mercados. Aún así, parece que volúmenes muy frecuentemente utilizados por diversos países serán admitidos durante más tiempo que el definido por esta Norma.

Es de destacar la inclusión de los vinos de Jerez como vinos de licor, lo que parece indicar la poca influencia de nuestro sector en las organizaciones de la Comunidad Económica Europea en contraste con el sector vinícola francés que incluso ha conseguido un volumen especial de 0,62 l. para vinos de denominación de origen como "Chateau-Chalon".

TABLAS DE VOLUMENES ADMITIDOS(REFERIDOS A ALGUNOS PRODUCTOS)

(NORMA 79/1005/CEE del 23/11/79)

Volúmenes nominales en litros

LIQUIDOS	I	II
	Admitidos a	Admitidos
	Título Definitivo	Transitoriamente
1. a)Vinos de mesa y otros	0,10;0,25;0,375;0,50; 0,75;1;1,5;2;3;5.	0,35;0,70;0,73 1,25
1. d)Vinos de li- cor(Jerez) y otros	De 0,05 a 0,10;0,10; 0,20;0,375;0,50;0,75 1;1,5.	-----
4. Brandy,Ginebra, Aguardiente y otros	0,02;0,03;0,04;0,05; 0,10;0,20;0,50;1;1,5; 2;2,5;3.	0,35;0,375;0,70 0,75.
5. Vinagres comes- tibles y otros	0,25;0,50;0,75;1;2;5.	-----

- Los volúmenes admitidos transitoriamente podrán utilizarse hasta el 31 de Diciembre de 1988,excepto el volumen de 0,73 del punto 1.a) que solo se podrá usar hasta el 31 de Diciembre de 1985.
- Parece ser que existe una modificación posterior que permite transitoriamente volúmenes en los puntos 1.d) y 5.,como por ejemplo el 0,70 para vinos de jerez.Igualmente parece raro que no aparezcan volúmenes de 0,70 ó 0,75,admitidos a Título Definitivo en el punto 4.

CUADRO nº 5

- Errores máximos permitidos en el volumen.

Exponemos en el cuadro siguiente los errores máximos tolerados en volumen,que están establecido sólo por defecto,como límites del volumen individual de las botellas,dejando libre la tolerancia por exceso.

Se observa que los errores máximos permitidos en volumen al embotellador son un 50% mayor que los permitidos al fabricante de la botella,debido a que se tiene en cuenta la tolerancia de la botella

más la tolerancia de la maquina de llenado.

ERRORES MAXIMOS TOLERADOS POR DEFECTO PARA EL EMBOTELLADOR
(NORMA 79/1005/CEE del 23/11/79 y REAL DECRETO 2506/83,BOE 20/9/83)

Capacidad nominal en mililitros	Errores máximos tolerados	
	En %	En ml.
De 5 a 50	9	-
De 51 a 100	-	4,5
De 101 a 200	4,5	-
De 201 a 300	-	9
De 301 a 500	3	-
De 501 a 1000	-	15
De 1001 a 10000	1,5	-

CUADRO nº 6

- Responsabilidad del envasador sobre el contenido efectivo desus productos envasados.

La Directriz 79/1005/CEE en su Anexo I,punto 4. y Real Decreto 2506/83 en su artículo 10 definen claramente la responsabilidad del envasador,o en su caso del importador,en cuanto a que los envases respondan a las prescripciones de dichas normas.

Esta prescripciones se pueden centrar en tres reglas básicas del envasador:

1ª.- El volumen efectivo del contenido,en la media,no debe ser inferior al volumen nominal.

2ª.- La proporcioón de envases que presentan un error en menos superior al error máximo permitido deberá ser lo suficientemente pequeña como para permitir que los lotes cumplan con los controles establecidos en las normas.

En la práctica deben superar un control estadístico por atributos,con un 2,5 de nivel aceptable de calidad y nivel de Inspección II,para controles no destructivos,y nivel S-3 para los destructivos.

3ª.- No deberá haber envase alguno con un error,en menos,superior a dos veces el error máximos permitido.

- Controles que deben cumplir los productos envasados.

El control sobre el volumen de los productos envasados será

realizado por muestreo y comprenderá dos partes, que se deben cumplir para considerar aceptable un lote.

1ª) Control sobre el volumen efectivo de cada envase de la muestra.

Este control tiene como objeto comprobar el número de envases con volumen inferior al volumen mínimo tolerado y ver si se cumplen las reglas 2ª y 3ª del envasador.

Existen controles destructivos y no destructivos, disponiendo cada uno de ellos de planes de muestreo simple y doble. (En la norma del Real decreto 2506/83 solo aparece el plan de muestreo doble para el control no destructivo y el simple para el control destructivo).

En los controles no destructivos se elige una muestra, según el tamaño del lote, y se acepta o rechaza de acuerdo con el número de unidades defectuosas que aparecen en el plan de control.

En los controles destructivos se reduce lógicamente la muestra, que es igual para todos los tamaños de lotes, aceptándose con una unidad defectuosa y rechazándose con dos o más.

Se denomina unidad defectuosa aquella cuyo volumen está por debajo del error máximo permitido (T_1).

Si aparece alguna unidad con volumen inferior al doble del error máximo permitido (T_2), se rechazará el lote.

2ª) Control sobre la media de los volúmenes efectivos de los envases de la muestra.

Con este control se pretende conocer si el valor del volumen medio cumple con la primera regla del envasador, para lo que debe ser superior o igual al volumen nominal menos una constante, variable según el tamaño de la muestra, multiplicada por la desviación standard.

PLANES DE MUESTREO PARA EL CONTROL DE LA MEDIA DE LOS VOLUMENES EFECTIVOS DE LA UNIDADES DE UN LOTE DE ENVASES (NORMA 79/1005/CEE)

1. CONTROL NO DESTRUCTIVO

<u>Tamaño del lote</u>	<u>Muestra</u>	<u>Aceptación</u>	<u>Rechazo</u>
≤ 500	30	$\bar{X} \geq V_n - 0,503\sigma$	$\bar{X} < V_n - 0,503\sigma$
> 500	50	$\bar{X} \geq V_n - 0,379\sigma$	$\bar{X} < V_n - 0,379\sigma$

2. CONTROL DESTRUCTIVO

Cualquiera ≥ 100	20	$\bar{X} \geq V_n - 0,64\sigma$	$\bar{X} < V_n - 0,64\sigma$
-----------------------	----	---------------------------------	------------------------------

Al igual que en el control sobre el volumen efectivo de cada envase, para el control de la media hay dos tipos de control: no destructivo y destructivo. En ellos varía el número de la muestra según el tipo de control y el tamaño del lote y debe cumplirse la correspondiente inecuación.

El objetivo de todo lo desarrollado hasta este momento, reglamentado por las normas citadas, ha sido el conseguir que no hubiese fraude al consumidor y por tanto todo el enfoque ha estado dirigido a no permitir volúmenes de llenado inferiores a los volúmenes nominales.

Independientemente de las anteriores exigencias existe otra que deben cumplir todos los productos destinados a la exportación y que podemos denominar: "Situación del volumen medio con respecto al volumen nominal". Es exigida por las Autoridades Aduaneras de Gran Bretaña, en virtud de la circular de 22 de Diciembre de 1982, que nos obliga a conseguir un volumen medio no inferior al volumen nominal, de acuerdo con la Directriz en vigor 79/1005/CEE, pero no mayor que unas tolerancias en más, según la tabla de volúmenes siguiente:

<u>Volumen en cl.</u>	<u>Tolerancia de la media</u>
Hasta 35	+ 1 ml.
De 35,1 a 100	+ 2 ml.
Más de 100	+ 3 ml.

Un volumen medio mayor de los tolerado en esta tabla repercutirá en mayores derechos de aduana y por consiguiente en un aumento de impuestos, independientemente del mayor costo del producto.

ACCIONES A REALIZAR

Hemos dividido las acciones a realizar en tres fases:

- En materias primas.

La primera medida debe ser disponer de un envase con volumen lo más ajustado al nominal y con la menor dispersión posible. Para ello consideramos necesario:

- a) Solicitar de nuestros proveedores de botellas que fabriquen todos nuestros modelos con las condiciones del envase-medida según la Directriz 75/107/CEE.
- b) Dadas las diferencias observadas entre las exigencias establecidas al fabricante de botellas y las del embotellador,

debemos aumentar las del primero, en el sentido de establecer el porcentaje máximo admisible de unidades defectuosas, en cuanto a su volumen individual, así como la situación del volumen medio, con tolerancias que permitan cumplir las normas del embotellador.

- c) Establecer un sistema de control de volumen de las botellas a la recepción de las mismas, de forma que sea posible detectar los momentos de fabricación con un volumen fuera de normas.

Este control se efectuará sobre los tres puntos siguientes, que deben resultar positivos para considerar aceptable un lote:

- Situación del volumen medio (exigencias de las Aduanas).
- Número de unidades con volumen inferior al volumen mínimo tolerado (Reglas segunda y tercera del envasador).
- Valor del volumen medio (Regla primera del envasador).

Este último punto debe controlarse por el método de la desviación standard o por el del recorrido medio.

- En el proceso.

El segundo punto cronológico de acción es el Proceso, en el momento del prellenado y ajuste, donde debemos volcar nuestro esfuerzo, de forma que el inicio de llenado sea en óptimas condiciones.

Las acciones a desarrollar en esta fase son:

- a) Confección de una tabla de corrección de volúmenes, en función de la temperatura, formato y densidad de los productos.
- b) Determinación de tolerancias, por exceso y por defecto, para las distintas alturas del corte de llenado, de forma que se conozca lo que debe ser retirado como defectuoso de las líneas de embotellado.
- c) En cada cambio de formato, antes del inicio del lleno:
 - Determinación del corte de llenado, en un solo pitorro de la llenadora, con la botella patrón y según la temperatura del producto.
 - Comprobación de que, con el corte establecido y con las botellas a utilizar, se consigue la capacidad deseada, para lo que se llenarán dos muestras de cinco botellas en el pitorro ajustado, debiendo estar las medias dentro de las

exigencias conocidas:

$$V_n \leq \bar{X} \leq V_n + T_x^-$$

- Ajuste al corte de llenado definido de los restantes pitos de la llenadora.

- En la producción.

La normas comentadas de la CEE y el Real Decreto 2506/83 responsabilizan al envasador de los contenidos efectivos de sus productos. Es necesario por tanto realizar controles sobre la producción consistentes en la comprobación del volumen conseguido.

Esto solo es posible mediante la utilización de un control estadístico, según las tres variantes siguientes:

- a) Utilizando botellas con medición de contenido y controlando solo la altura del corte de llenado.
- b) Usando el sistema de pesada y convirtiendo la masa en volumen, a través de la densidad de cada producto.
- c) Vacinando el contenido de las muestras en un recipiente adecuado para medir capacidades.

El primer sistema no es posible mientras no dispongamos de botellas de este tipo, que por ahora no fabrican nuestros vidrieros.

El segundo sistema requiera un equipo bastante sofisticado, del que existen ya varias marcas en el mercado y que, según parece, va a ser el que se impondrá en un futuro próximo, debido a:

- Posibilidad de ampliar el número de la muestra en el mismo tiempo de control (mayor fiabilidad).
- Registro mecanizado de datos (más rapidez y menor riesgo de errores).
- Extracción automática de diversas estadísticas y avisos de corrección de volúmenes de las llenadoras.

El tercer sistema es el más utilizado actualmente y por consiguiente es sobre el que intentaremos profundizar más.

Consiste en comprobar el contenido de unas muestras de botellas ya llenas, con una periodicidad determinada, registrar sus resultados y comprobar si cumplen con los requisitos de las normas en vigor. Puede hacerse de muy diversas formas, pero el más factible y barato es el Sistema Promedio, modificado con la anotación de los volúmenes exactos de las muestras y de sus medias, que es además el método recomenda-

do por el Departamento de Precios y Protección al Consumidor de Gran Bretaña, uno de los países más exigentes.

Se utilizan los impresos indicados en el CUADRO nº 8 por cada producto y formato, no dejándose de utilizar hasta que sus veinte columnas hayan sido rellenas. De esta forma aparecen controles de varios días en un mismo cuadro que deberá guardarse a disposición de los Servicios de Inspección durante un plazo de cinco años.

A continuación se indica someramente la forma de rellenar este cuadro de capacidad.

a) Extracción de muestras.

Una vez realizados los ajustes necesarios, antes del inicio del llenado, y normalizada la producción, se toman muestras sucesivas de cinco botellas, a intervalos aproximados de una hora, comprendiendo los pitorros uno a cinco, seis al diez, etc..., de tal manera que todos los pitorros de la llenadora sean comprobados.

Revisados todos los pitorros, las restantes muestras se cogerán al azar.

Todas las muestras se extraerán después de pasar por el control que haya establecido en cada línea sobre la altura del corte de llenado

b) Anotación de resultados.

Se mide la temperatura del contenido de una de las cinco botellas de cada muestra.

El contenido de las muestras se mide en probeta, con apreciación de un mililitro.

Se anotan los volúmenes corregidos de cada una de las botellas de la muestra, junto con la temperatura, fecha y hora de extracción de la misma.

Se suman los volúmenes de las cinco unidades de cada muestra y se saca la media, con apreciación de un decimal, y el recorrido medio. Al final del día se sacarán la media y el recorrido medio obtenidos.

c) Acción correctora.

Ya hemos hablado de la responsabilidad del envasador en garantizar que el volumen de sus productos envasados cumpla con las normas establecidas. Así pues, si los volúmenes obtenidos en las muestras están fuera de lo permitido, se cogerá inmediatamente otra muestra de cinco botellas y, si vuelve a repetirse la anomalía, se ajustarán de nuevo todos los pitorros de la llenadora, teniendo en cuenta que la

PEDRO DOMEQ, S. A. Control de Calidad		CONTROL EN LINEA SOBRE CAPACIDAD DE LLENADO		EMBOTELLADO		LINEA		VERIFICADOR		P. T.					
PRODUCTO		G. L.		PEDIDO		PAIS		V. Nominal		T \bar{x}		T1		T2	
Fecha															
Hora															
Temperatura															
Nº Pitorros															
1															
2															
Muestras 3															
4															
5															
TOTAL															
MEDIA															
RECORRIDO															
MEDIA DIARIA															
$V_n \times V_n + T\bar{x}$															
Recorrido medio diario															
OBSERVACIONES:															
<div> <div></div> <div> PEDRO DOMEQ, S. A. San Ildefonso nº 3 Jerez de la Frontera (ESPAÑA) </div> </div>															

anomalía por exceso implica fundamentalmente un incremento de costos, mientras que por defecto, la invalidez de la partida.

Estas acciones a realizar aunque complejas y laboriosas, son necesarias para poder cumplir las exigencias anteriormente citadas.

Asimismo estamos convencidos de la necesidad de incluir estas actividades dentro del proceso global de producción para conseguir una buena imagen de calidad de los productos.

BIBLIOGRAFIA

- "Council Directive 75/106/CEE". OFFICIAL JOURNAL OF THE EUROPEAN COMMUNITIES. (1975).
- "Quantity Marking for Prepackaged Wine". DEPARTAMENT OF PRICES AND CONSUMER PROTECTION. (1979).
- "Council Directive 79/1005/CCE". OFFICIAL JOURNAL OF THE EUROPEAN COMMUNITIES. (1979).
- "QUIROS CARRASCO, J.Mª. y ARROYO FELICES, L." Control de capacidad de llenado en los embotellados". CIRCULAR Nº 3 DE ESESA SOBRE INFORME SISTEMA PROMEDIO. (1982).
- "Customs Control Limits". REGULATION 22 OF THE EXCISE WAREHOUSING. (1982).
- "Real Decreto 2506/1983". BOE nº 225. (1983).

LA CORREZIONE DELL'ACIDITÀ DEI VINI

Usseglio-Tomasset, L.

Istituto Sperimentale per l'Enologia. Asti. (Italia).

SUMMARY

A detailed research on acidification of wines has been carried out.

The purpose was to obtain a well determined pH value of wines after stabilisation following from precipitation of potassium salt with tartaric acid.

The method for determining the amount of acid suitable to obtain the desired pH value is described as well.

- - - - -

La correzione dell'acidità dei vini mira a due risultati opposti a seconda che si tratti di diminuire un'acidità eccessiva (disacidificazione) o di aumentare un'acidità carente (acidificazione)

Per valutare con rigore gli effetti dell'impiego dei disacidificanti chimici consentiti (bicarbonato potassico, carbonato di calcio) e dell'acido tartarico, unica sostanza acidificante ammessa dalla legge, occorre operare sul vino, mezzo omogeneo, con struttura acida definita e determinabile analiticamente: le disacidificazioni ed acidificazioni effettuate su mosti torbidi o peggio sulla massa del pigiato, non consentono né di seguire, né di prevedere l'evoluzione dei fenomeni

Da un punto di vista organolettico, che deve rappresentare l'obiettivo sostanziale di un intervento, una disacidificazione o un'acidificazione devono mirare a modificare il valore del pH del vino: è infatti la concentrazione idrogenionica quella che determina la sensazione gustativa dell'acidità.

Occorre dunque ragionare in termini di pH e non di acidità totale; tuttavia questa verità evidente stenta ad aprirsi la strada in enologia, perché è facile ed abituale la determinazione dell'acidità totale e quindi l'apprezzamento della sua variazione, anche se essa non è proporzionalmente legata alla variazione della concentrazione idrogenionica, che è quella organoletticamente significativa. Oggi si

hanno apparecchiature accessibili per la misura del pH, le quali forniscono risultati precisi se le misure vengono eseguite con la cura e la diligenza necessarie; esiste tuttavia una certa difficoltà psicologica ad assumere consapevolezza dell'importanza delle variazioni di pH e questo perchè le variazioni sono espresse da numeri piccoli e si dimentica che si tratta di valori esponenziali, per cui una variazione di 0,3 nel pH comporta una variazione da 1 a 2 nella concentrazione idrogenionica.

Una disacidificazione o un'acidificazione esercitano sul vino un'influenza complessa che coinvolge tutti gli equilibri di salificazione degli acidi organici; non solo, ma l'aggiunta di bicarbonato potassico, carbonato di calcio o acido tartarico non determina soltanto fenomeni di neutralizzazione reciproca tra acidi e basi, ma comporta automaticamente la precipitazione di sali poco solubili. Queste precipitazioni, al di là dei problemi di stabilizzazione chimico-fisica, influiscono profondamente sul risultato finale della disacidificazione o dell'acidificazione, anzi in quest'ultimo caso sono determinanti per il risultato stesso.

LA MODIFICAZIONE DEL pH DEI VINI

I vini sono delle soluzioni "tampone" perchè contengono acidi deboli in presenza dei propri sali e manifestano quindi una certa resistenza alla variazione del pH per aggiunta di acidi e di basi.

Questa resistenza è espressa dal potere tampone π , definito come il rapporto tra la quantità di base o acido forte e la variazione di pH relativa, per variazioni infinitesime di pH:

$$\pi = dL / d \text{ pH}$$

dove dL rappresenta un'aggiunta infinitesima di base o di acido forte.

In altre parole il potere tampone esprime la quantità di base o acido forte necessaria per far variare il pH di un'unità (ad esempio da 3,00 a 4,00), determinata prendendo in considerazione variazioni piccolissime di pH.

Considerazioni teoriche dimostrano che è possibile esprimere il potere tampone π di una soluzione di un acido organico in presenza dei suoi sali in funzione della concentrazione (espressa in meq/l) dell'acido libero e di quella dell'acido salificato.

Queste considerazioni sono perfettamente applicabili ai vini,

considerando gli acidi liberi espressi dall'acidità titolabile e quelli salificati espressi dall'alcalinità delle ceneri. Indicando con T e S rispettivamente l'acidità totale e l'alcalinità delle ceneri, entrambe espresse in meq/l, si arriva dunque alla seguente espressione del potere tampone secondo Henderson-Hasselbach:

$$\pi = dL/d \text{ pH} = 2,303 \text{ T.S/T+S} \quad /1/$$

Il coefficiente 2,303 è quello di trasformazione dei logaritmi neperiani in logaritmi decimali.

L'impiego della formula /1/ ci consente dunque di conoscere i meq/l di base o di acido forte necessari per aumentare o diminuire di 1 il valore del pH: come si vedrà dai dati sperimentali, nell'ambito delle variazioni di pH di interesse enologico, i valori della formula /1/ anche se non sono sempre perfettamente d'accordo con quelli forniti dall'esperienza (che si riferiscono ad intervalli misurabili di pH), danno un'utile informazione numerica.

Noi abbiamo condotto uno studio particolareggiato dell'acidificazione e della disacidificazione dei vini, impiegando nel primo caso l'acido tartarico, mentre nel secondo si è fatto uso di due disacidificanti, il bicarbonato potassico ed il carbonato di calcio.

Occorre subito sottolineare la profonda differenza esistente tra i mezzi impiegati per disacidificare e per acidificare: infatti nel primo caso si fa uso di basi forti (i carbonati si comportano come gli idrossidi, in quanto sali del debolissimo acido carbonico), mentre nel secondo si impiega un acido debole.

Nella disacidificazione dobbiamo dunque attenderci lo stesso risultato ottenibile con l'aggiunta della quantità equivalente di idrossido di sodio: questo per quanto attiene all'effetto di neutralizzazione.

Ma all'effetto neutralizzante si aggiunge nel caso del l'impiego rispettivamente di KHCO_3 e di CaCO_3 , la successiva precipitazione di bitartrato potassico e tartrato neutro di calcio, che si ripercuote sugli equilibri di salificazione, e quindi significativamente sul valore del pH, nel senso di una sua diminuzione.

In questa sede ci limiteremo ad esporre i risultati ottenuti nello studio dell'acidificazione dei vini, dai quali si può ricavare il modo di procedere praticamente al fine di raggiungere un obiettivo prestabilito.

Infatti i problemi della disacidificazione, che dal punto di vista fisico-chimico si presentano in modo un poco più complessi interessano principalmente i climi e le regioni settentrionali.

L'ACIDIFICAZIONE DEI VINI

L'acidificazione dei vini può essere effettuata secondo la legge soltanto con l'impiego di acido tartarico.

Lo scopo è quello di ottenere un valore determinato del pH del vino, al fine di conseguire un particolare risultato organolettico.

Poichè l'acido tartarico, anche se il più forte degli acidi organici del vino, è pur sempre un acido debole, l'effetto acidificante sarà conseguenza non tanto di un aumento dell'acidità totale, quanto della diminuzione dell'alcalinità delle ceneri (acidità salificata) che si ottiene in fase di stabilizzazione per precipitazione di bitartrato potassico.

La stabilizzazione è pertanto indispensabile non solo per realizzare la necessaria stabilità fisico-chimica del vino, ma proprio per raggiungere nell'acidificazione il risultato desiderato.

Nel caso dell'acidificazione la precipitazione di bitartrato potassico esalta la diminuzione di pH, che si registra dopo l'aggiunta di acido tartarico.

Infatti la relazione tra il pH e le quantità di acido tartarico libero e semicombinato è la seguente:

$$\text{pH} = \text{pK}_1 + \log \frac{[\text{HT}^-]}{[\text{H}_2\text{T}]} \quad /2/$$

Della formula /2/ risulta evidente che aggiungendo acido tartarico, cioè aumentando il denominatore della frazione, il secondo termine diminuisce e quindi il pH si abbassa; ma risulta altrettanto evidente che la precipitazione di bitartrato significa una diminuzione del numeratore, con relativo abbassamento del pH. A differenza del caso della disacidificazione, ma per gli stessi motivi che coinvolgono gli equilibri di salificazione, la precipitazione di bitartrato agisce ulteriormente nel senso desiderato.

Si può affermare che se l'acido tartarico aggiunto precipita completamente come bitartrato potassico, l'effetto finale è equivalente a quello ottenuto aggiungendo al vino i meq/l di acido forte, come ad esempio il cloridrico o il solforico, pari ai meq/l di potassio preci-

pitato: si osserva in definitiva una diminuzione dell'alcalinità delle ceneri (acidità salificata) uguale alle millimoli di acido tartarico aggiunto.

Le prove di acidificazione sono state condotte su 9 vini pugliesi con elevato valore del pH.

Si sono eseguite delle prove preliminari aggiungendo a 100 ml di vino dell'acido cloridrico N/10 sino ad ottenere una diminuzione di pH compresa tra 0,25 e 0,50, a seconda del valore iniziale del pH del vino.

Si è praticata quindi al vino l'aggiunta di acido tartarico impiegando un numero di millimoli per litro pari ai meq/l di HCl usato e si è poi effettuata la stabilizzazione per conservazione a -5°C per 7 giorni.

La differenza tra i tenori in potassio prima e dopo stabilizzazione ha consentito di valutare l'acido tartarico precipitato come bitartrato potassico. I risultati ottenuti sono esposti nella Tabella I. I dati della Tabella I meritano alcune osservazioni e commenti:

1°) I vini meridionali, caratterizzati da elevati valori del pH, presentano bassa acidità totale e valori generalmente elevati dell'alcalinità delle ceneri.

Ad ennesima riprova che il pH non è condizionato dall'acidità totale, ma dal rapporto tra acidità totale e alcalinità delle ceneri, la possibilità di un abbassamento del pH stesso non dipende da un aumento dell'acidità totale, ma da un abbassamento dell'alcalinità delle ceneri, ottenibile soltanto in fase di stabilizzazione di bitartrato.

2°) Un favorevole cambiamento di un valore del pH troppo elevato dei vini è conseguibile soltanto con una variazione modesta dell'acidità totale ed una consistente variazione dell'alcalinità delle ceneri.

Pertanto dopo acidificazione con acido tartarico, seguita da indispensabile refrigerazione, i vini si presenteranno con acidità titolabile leggermente aumentata, ma con alcalinità delle ceneri fortemente diminuita.

È impossibile il miglioramento organolettico dei vini poco acidi senza una rilevante diminuzione dell'alcalinità delle ceneri: per questi vini, opportunamente corretti, il rapporto

tra il valore dell'alcalinità ed il peso delle ceneri si discosta nettamente da quello degli altri tipi di vino ed esso non può certamente essere considerato un elemento per dubitare della loro genuinità.

- 3°) Come conseguenza della diminuzione inevitabile dell'alcalinità delle ceneri, i vini presentano dopo stabilizzazione una notevole diminuzione del potere tampone.
- 4°) Come risulta evidente dai dati della Tabella I, si può affermare che un numero di millimoli per litro di acido tartarico causa, dopo stabilizzazione, un abbassamento del pH uguale agli stessi meq/l di acido cloridrico: in generale la precipitazione di bitartrato è pari alle millimoli di acido tartarico aggiunto e produce pertanto il medesimo abbassamento di pH dello stesso numero di milliequivalenti di acido forte.
- 5°) Nel caso dell'acidificazione con acido tartarico la previsione dei risultati è semplificata: si otterrà dopo stabilizzazione il valore del pH previsto, se si aggiungeranno tante millimoli per litro di acido tartarico, quanti sono i meq/l di HCl necessari per ottenere quel pH.
- 6°) La stabilizzazione con il freddo si dimostra in questo caso non soltanto una necessità per evitare gli intorbidamenti da cremore, ma il mezzo indispensabile per realizzare, attraverso la precipitazione di bitartrato potassico, quella diminuzione dell'alcalinità delle ceneri che consente di abbassare il pH sino al valore desiderato.

CONCLUSIONI

L'acidificazione dei vini a pH eccessivamente elevato per mezzo dell'impiego dell'acido tartarico, consente di abbassare favorevolmente il valore del pH, non per l'aumentata acidità titolabile dei vini, ma per la diminuita alcalinità delle ceneri che ne consegue.

Il basso valore dell'alcalinità delle ceneri dei vini trattati non deve essere considerato un'anomalia, ma anzi il segno dell'efficacia del trattamento effettuato, che non può pertanto prescindere da una stabilizzazione per mezzo della refrigerazione.

Il pH ottenibile dopo stabilizzazione a la quantità di acido tartarico da impiegarsi sono prevedibili, misurando la quantità di aci-

'do cloridrico necessaria per ottenere una determinata variazione di pH.

I fenomeni osservati sono la conseguenza dei rapporti fisico-chimici esistenti tra pH,acidi liberi ed acidi salificati del vino,esprimibili rispettivamente attraverso i parametri dell'acidità titolabile e dell'alcalinità delle ceneri (acidità salificata).

BIBLIOGRAFIA

- Usseglio-Tomasset,L."Contributo alla conoscenza degli equilibri fisico-chimici in funzione della stabilizzazione dei vini".Atti Acc.It. Vite Vino,6,335 (1954).
- Usseglio-Tomasset,L."La stabilizzazione dei vini nei riguardi del bitartrato potassico".Riv.Vitic.Enol.,10,317 (1957).
- Usseglio-Tomasset,L."Conseguenze chimico-fisiche di un cambiamento nello stato di combinazione degli acidi del vino".Riv.Vitic.Enol.12, 86;ibidem,135 (1959).
- Usseglio-Tomasset,L."La correzione dell'acidità dei vini".Vini d'Italia,15,309 (1973).
- Usseglio-Tomasset,L.;Bosia,P.D."Chiarimenti sperimentali sullo stato di saturazione del bitartrato potassico nei mosti e nei vini".Riv.Vitic.Enol.35,261 (1982).

T A B E L L A I

VINI 1981. ACIDIFICAZIONE CON ACIDO TARTARICO E SUCCESSIVA STABILIZZAZIONE CON CONSERVAZIONE A -5°C PER 7 GIORNI

	Bianco S. Severo	Bianco Andria	Bianco Puglia	Rosato Puglia	Rosso Puglia	Bianco Puglia	Trebbiano Bombino bianco	Trebbiano Bombino bianco
Alcohol % in volume	10,38	12,48	11,80	13,50	12,84	11,87	10,89	10,56
pH	3,50	3,92	3,63	3,68	3,56	3,73	3,60	3,64
Acidità totale meq/l	61,10	54,00	60,45	57,40	66,50	50,90	52,80	59,35
Alcalinità ceneri meq/l	22,0	42,0	27,0	27,0	29,0	28,0	26,6	31,5
π calcolato meq/l	37,25	54,41	42,98	42,29	46,51	41,60	40,74	47,39
K meq/l	22,253	40,413	31,461	26,090	26,671	29,057	26,395	29,415
Ca meq/l	2,794	3,194	3,992	2,794	3,992	3,793	4,391	4,990
Acidificazione								
HCl aggiunto meq/l	10,80	22,20	11,70	10,70	11,10	11,30	12,30	12,90
pH	3,20	3,43	3,28	3,35	3,30	3,37	3,23	3,30
Δ pH	0,30	0,49	0,35	0,33	0,26	0,36	0,37	0,34
π determinato meq/l	36,00	45,31	33,43	32,42	42,69	31,39	33,24	37,94
Acidificazione								
H ₂ T aggiunto mmoli/l	11,147	22,207	11,753	10,687	11,193	11,280	12,213	13,086
Acidità totale meq/l	83,39	98,41	83,96	78,77	88,89	73,46	77,23	85,52
pH determinato	3,31	3,52	3,39	3,44	3,35	3,45	3,31	3,36
Stabilizzazione								
K precipitato meq/l	10,589	23,071	11,843	10,232	7,162	9,495	8,338	9,720
Acidità totale meq/l	72,80	75,34	72,12	68,54	81,73	63,96	68,89	75,80
pH determinato	3,15	3,33	3,25	3,32	3,28	3,34	3,24	3,26
π calcolato meq/l	22,72	34,84	28,85	31,03	39,69	33,05	33,24	38,96

Fregoni, M.; Bavaresco, L.

Cattedra di Viticoltura. Università Cattolica. Piacenza (Italia).

Numerose specie coltivate in tutto il mondo vanno soggette alla carenza di ferro, la quale si manifesta con intensità diverse nelle varie colture interessate e, all'interno di esse, nelle differenti cultivars. La scala di sensibilità vede al primo posto le specie da frutto (pesco, pero, vite, fragola, lampone, melo, avocado, banano, agrumi, noce americano, arachide) seguite dalle colture erbacee (orzo, gagiolo, avena, patata, sorgo, soia) e da numerosi fiori e piante ornamentali.

FUNZIONI METABOLICHE DEL FERRO

La carenza di ferro provoca la clorosi del tessuto fogliare a causa dell'inadeguata sintesi di clorofilla. Nelle piante superiori circa il 60% del ferro totale delle foglie è concentrato nei cloroplasti. Il ferro, infatti, interviene nel processo di sintesi della clorofilla, catalizzando la reazione tra succinil CoA e glicina con formazione momentanea dell'acido α -amino β -cheto adipico, che si decarbossila ad acido δ -aminolevulinico, il quale si condensa per formare il gruppo pirrolico. Probabilmente il ferro interviene con la sua azione catalitica anche nell'introduzione del Mg^{++} nel gruppo tetrapirrolico (porfirina). Secondo SPILLER e TERRY (1980) presiede anche alla sintesi delle membrane dei cloroplasti, dei complessi clorofillo-proteici, dei carotenoidi, dei centri di reazione.

Il ferro inoltre è presente nella molecola dell'eme (la cui introduzione è catalizzata dall'enzima ferrochelatasi) costituendo i vari citocromi, perossidasi e catalasi, e nella fitoferritina e ferredoxina.

La ferritina (fosfato ferrico ricoperto di proteine) è la forma con cui la pianta immagazzina impedendo agli eventuali agenti patogeni di utilizzarlo (SMITH, 1983).

Tutti i composti sopra menzionati possono ridurre la loro attività in condizioni di ferro-carenza. Altri enzimi possono richiedere Fe^{++} per la loro attivazione.

ASSORBIMENTO E TRASPORTO DEL FERRO

La mobilizzazione del ferro nell'interfaccia suolo-radice sembra dipendere dall'abbassamento del pH o da una caduta del potenziale redox, o da entrambi, in funzione delle specie e della varietà.

La piante Fe-efficienti presentano un meccanismo di regolazione del pH, mediante le escrezioni di sostanze acidificanti, quali acido citrico, acido mugineico; il pH diminuisce finché la pianta non è rinverdita e riprende ciclicamente in risposta ad ulteriori stress.

Secondo calcoli effettuati con la ferridrite a pH 7, il potenziale redox si dovrebbe abbassare a -10 mV per mobilizzare 0,2 ppm di Fe come Fe^{++} (CHEN e BARAK, 1982). Evidentemente il ferro viene assorbito nella forma ridotta Fe^{++} (CHANEY et al., 1972). Inoltre l'effetto dell'anaerobiosi e degli inibitori di respirazione (rotenone, oligomicina) dimostrano la connessione tra il trasporto mitocondriale di elettroni e la riduzione del ferro. L'agente riduttore prodotto dalle piante può appartenere a specie chimiche diverse e si accumula alla periferia delle giovani radici; finora sono stati individuati l'acido caffeico, l'acido clorogenico (è il maggior riduttore nel pomodoro e nel girasole) e altre sostanze simili (HETHER et al., 1983).

La piante Fe-efficienti inoltre hanno la capacità di formare le cellule transfer in rapporto allo stress e ciò rappresenta probabilmente una caratteristica di Fe-efficienza a livello citologico (LANDSBERG, 1982). Queste cellule producono agenti riduttori, espellendo protoni ed aumentando l'assorbimento e la traslocazione del ferro. Si suppone che nella fase di stress, a un certo punto le giovani foglie in forte crescita e con alta domanda di ferro, mandino un segnale alle radici per indurle alla formazione delle cellule transfer. L'aumento del trasporto del ferro porta al ripristino della fotosintesi clorofilliana. Conseguentemente l'attività fisiologica delle cellule transfer nelle radici cessa e la loro tipica ultrastruttura degenera (LANDSBERG 1983).

In carenza di Fe la specie Fe-efficienti mettono in atto altri adattamenti, quali la secrezione di riboflavina (la cui azione specifica non è chiaramente conosciuta) e l'aumento della formazione dei peli radicali (Wallace, 1982).

Anche alcuni microorganismi hanno evoluto un loro specifico sistema di carriers (siderofori) capaci di assorbire il ferro triva-

lente (SMITH e NEILANDS, 1983).

INDICATORI DELLA FERRO-CARENZA

Il primo approccio al problema venne affettuato misurando il contenuto di ferro nel terreno e nei tessuti vegetali, con l'obiettivo di stabilire dei livelli critici per la ferro-carenza. Non sempre però si trovò correlazione tra contenuto totale di ferro nella pianta e intensità della clorosi (misurata tramite il contenuto di clorofilla) al punto che, in certi casi, foglie clorotiche contenevano più ferro di quelle sane. La pianta infatti necessita di un adeguato rifornimento in ferro durante la fase di formazione della clorofilla, dopodiché può continuare accumulandolo senza che il contenuto di clorofilla possa variare. Queste considerazioni quindi indussero a considerare il contenuto totale di ferro come un indicatore poco probante.

Si cercò allora di frazionare il ferro totale in "ferro attivo" estratto con HCl N e ferro estraibile a pH 3 con O-fenantrolina. Alcuni autori proposero come indice, alcuni rapporti tra elementi (Fe/N , P/Fe e Fe/Mn) in considerazione del fatto che alcuni di essi inibiscono l'assorbimento del ferro o causano una sua inattivazione all'interno della pianta.

Anche questo metodo però ha presentato delle contraddizioni sperimentali a causa di effetti collaterali.

Un terzo tipo di indicatori, si basa sulla determinazione dell'attività della perossidasi e di altre emoproteine, ma anche in questo caso vi possono essere differenze varietali nei livelli di perossidasi indipendentemente dalla nutrizione ferrica.

Forse l'approccio più corretto appare essere la determinazione del contenuto di clorofilla nelle foglie che è risultata correlata a sintomi visivi di carenza. Anche questo metodo può presentare i suoi inconvenienti, nel senso che, ad esempio, bassi contenuti di clorofilla possono essere dovuti alla senescenza delle foglie o a stress causati da altri elementi; in quest'ultimo caso si dovrà parlare di clorosi non dovuta a ferro-carenza.

CAUSE DELLA CLOROSI FERRICA

I fenomeni di carenza colpiscono soprattutto le piante sensibili cresciute in suoli calcarei, che rappresentano circa il 30% della superficie totale coltivabile. Queste aree appartengono soprattutto

alle regioni aride e semiaride, dove i carbonati tendono ad accumularsi nel suolo.

I diversi tipi di carbonati che compongono il calcare, però, non presentano la medesima capacità clorosante, ma esiste una scala di intensità, come appare dalla Tabla 1.

Tabla 1.-Relazione fra tipo di carbonati e potere clorosante.

FORMULA	MINERALI	INTENSITA' DELLA CLOROSI
$MgCO_3$	Magnesite	Molto forte
$3 MgCO_3 \cdot Mg(OH)_2 \cdot 3 H_2O$	Idromagnesite	Molto forte
$CaCO_3$	Calcite	Forte
$SrCO_3$	Stronzianite	Leggera
$CaCO_3$	Aragonite	Lievissima
$BaCO_3$	Witherite	Lievissima
$CaCO_3 \cdot MgCO_3$	Dolomite	Nulla

Attualmente si fa distinzione fra calcare totale e calcare attivo.

Fra i due normalmente non esiste correlazione dato che il primo può essere sotto forma di ciottoli insolubili, mentre il calcare attivo è composto da fine particelle (facilmente solubilizzabili) di carbonato, normalmente aventi un diametro inferiore a 20μ e soggette agli attacchi dell'acqua carbonicata.

L'altro aspetto del problema della clorosi è rappresentato dal comportamento del ferro nel terreno, legato alle interazioni con i componenti del suolo.

La maggior parte del ferro presente nella crosta terrestre è sottoforma di silicati ferromagnesiati, dalla cui degradazione si libera il ferro ione trivalente che precipita come ossido o idrossido; solo una piccola parte è complessata dalla sostanza organica. La solubilità degli ossidi di Fe^{+++} è variabile e decrescente secondo la seguente scala: $Fe(OH)_3$ (ferridrite) $> Fe_2O_3$ (maghemite) $> \gamma FeOOH$ (lepidrocrocite) $> \alpha Fe_2O_3$ (ematite) $> \alpha FeOOH$ (goethite) (LINDSAY, 1979 citato da CHEN e BARAK, e.c.).

Poco si conosce sui complessi ferro-organici (per i quali normalmente viene usata come sostanza estraente il pirofosfato di sodio); comunque sembra che la sostanza organica svolga un ruolo impor-

tante nel processo di solubilizzazione degli ossidi di ferro.

Nell'intervallo di pH da 7 a 9 (interessato nei fenomeni di clorosi) il ferro solubile è presente principalmente nelle seguenti forme: $\text{Fe}(\text{OH})_2^+$, $\text{Fe}(\text{OH})_3$, $\text{Fe}(\text{OH})_4^-$ (LINDSAY, l.c.). Il $\text{Fe}(\text{OH})_3$ è il composto presente in maggior quantità, relativamente agli altri, anche se si trova a concentrazioni 10^{-10} M, mentre il livello critico per molte piante è 10^{-8} M (LINDSAY, 1983).

Per quanto riguarda la determinazione delle quantità disponibili nel terreno, esistono diverse metodiche e sostanze di estrazione tutte tendenti a riprodurre il più possibile l'azione del pelo radicale in quelle specifiche condizioni pedologiche. Una volta effettuata l'analisi però sorge il problema della taratura agronomica del test, cioè la stima della concentrazione critica che divide le piante con nutrizione normale da quelle stressante.

Tra le sostanze estraenti più usate si ricorda l'acqua, gli acidi (cloridrico, solforico), le soluzioni di acetato d'ammonio tamponate con acido acetico a pH 4,8 o 7 (secondo OLSON e CARLSON, 1950 citati da CHEN e BARAK, l.c. la soglia critica nei tamponi a pH 4,8 è di 2 ppm), l'ossalato di ammonio, sostanze chelanti come l'EDTA, l'EDDHA, il DTPA.

Quest'ultimo, attualmente rappresenta il miglior test per determinare il ferro disponibile o almeno una quota direttamente proporzionale ai reali contenuti utili del terreno, che dipendono da molti fattori, alcuni dei quali in relazione al metabolismo delle piante. Ultimamente HAVLIN e SOLTANPOUR (1982) hanno proposto una soluzione di NH_4HCO_3 e DTPA tamponato a pH 7,6 che ha il vantaggio di estrarre anche i macroelementi, e che consente, secondo gli autori, di discriminare in maniera attendibile i terreni carenti da quelli non; il livello critico per il sorgo sarebbe di 4,8 ppm. Sempre HAVLIN e SOLTANPOUR (1984) hanno espresso con un'equazione i legami esistenti tra il ferro estratto con il loro metodo ed i contenuti in un certo terreno di argilla e calcare.

Anche in uno studio di FREGONI e BAVARESCO (1984) si è rilevata una stretta correlazione positiva tra argilla e calcare attivo (fig. n° 1).

In viticoltura il problema della quantificazione del rischio di clorosi è stato avvertito in tutta la sua importanza, anche per il

fatto che la gran parte dei vigneti era ed è situata su suoli calcarei e che la V. vinifera (di per se resistente al calcare) è quasi ovunque innestata su specie o ibridi americani, molto più sensibili ai danni clorosi.

Inizialmente si usò come parametro discriminante il contenuto nel terreno di calcare totale, che perse di significato con l'introduzione della analisi del calcare attivo. Per ciascuno di questi metodi comunque sono state studiate delle scale di resistenza dei diversi portinnesti che hanno permesso di indirizzare razionalmente la scelta degli stessi sulla base di parametri misurabili.

Appare evidente, però, che un simile approccio al complesso problema della clorosi ferrica risulta incompleto, perchè considera solo uno dei fattori concorrenti, tralasciando tutti gli altri parametri del terreno interessati (Fe, pH, argilla, P, B, Cu, sostanza organica, K, Mn, ecc.).

Un contributo in questo senso è stato apportato da POUGET e JUSTE (1972) i quali hanno ridefinito la capacità clorosante del terreno, tenendo conto simultaneamente dei contenuti di calcare attivo e di ferro disponibile (estratto come ossalato diammonio) secondo una formula la cui risoluzione dà l'indice del potere clorosante:

$$\text{I.P.C.} = \frac{\text{CaCO}_3}{(\text{Fe})^2} \cdot 10^4$$

A parità di calcare attivo infatti può variare il ferro disponibile e quindi vi può essere clorosi anche quando il portinnesto sopporta i valori di calcare attivo denunciati dall'analisi. Anche per questo indice esiste una scala di resistenza per i vari portinnesti, che attualmente vede al primo posto il Fercal (Tabla 2).

Sebbene possa manifestarsi anche in suoli acidi, la clorosi ferrica è più comunemente associata ai suoli calcarei, da cui il termine di "clorosi indotta dal calcare". Doppo molti anni di studi e ricerche, la causa precisa della clorosi non è conosciuta con certezza.

Tuttavia si sono acquisite numerose conoscenze sui diversi fattori che concorrono al manifestarsi del fenomeno.

Più in particolare i diversi fattori agirebbero nel modo seguente:

- pH: quando è superiore a 8 il ferro viene ossidato e precipita

sotto forma insolubile, quali ossidi di ferro (secondo la reazione: $2 \text{Fe}^{+++} + 3 \text{CaCO}_3 + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow 2 \text{FeOOH} + 3 \text{Ca}^{++} + 3 \text{CO}_2$). idrossidi di ferro, fosfati di ferro e forme organiche complesse solo certi composti organici (umati, chelati) sono solubili a $\text{pH} > 7$.

- CO_2 : favorisce la formazione dello ione bicarbonico, secondo due vie, di cui la prima implica la dissoluzione del calcare secondo la seguente reazione: $\text{CaCO}_3 + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{Ca}^{++} + 2 \text{HCO}_3^-$; la seconda vede l'intervento dello ione OH^- (il quale viene escreto dalle radici in quantità più elevate rispetto allo H^+ , affinché la pianta possa mantenere al suo interno l'equilibrio elettrico, visto che di norma assorbe più anioni che cationi) che si combina con l'acqua e la CO_2 . Nei terreni calcarei i due meccanismi possono coesistere.

Nel primo caso si ha la formazione dello ione calcio che si comporta da antagonista del ferro nei processi di assorbimento legandosi ai carriers organici in luogo del Fe, mentre lo ione bicarbonico esplica la sua azione nociva nella nutrizione del ferro intervenendo nel mezzo (terreno) e all'interno della pianta.

Nel terreno il bicarbonato impedisce l'abbassamento del pH nell'interfaccia terreno-radici, condizione necessaria per l'assorbimento del Fe, a causa del suo effetto tampone, e favorisce l'aumento del fosforo solubile nella soluzione circolante (MILLER, 1960).

Nelle radici il bicarbonato agisce bloccando il ferro e impedendone le traslocazioni al resto della pianta, intossicando i sistemi enzimatici, in particolare quelli del metabolismo ossidativo (catena respiratoria), mentre secondo WALLANCE (1983) verrebbe in parte metabolizzato in acidi organici.

La resistenza all'azione dello ione bicarbonico è stata usata come screening nel miglioramento genetico della soia (COULOMBE et al., 1983).

- H_2O : favorisce l'asfissia e la formazione di ioni HCO_3^- per cui l'irrigazione nei terreni calcarei va evitata. Anche le piogge, soprattutto primaverili, provocano gli stessi danni dell'irrigazione.

- Elementi minerali:alcuni di essi presentano fenomeni di antagonismo dovuti a precipitazioni chimiche a carico del ferro nel suolo,a competizioni nei meccanismi di trasporto attivo regolati da proteine carrier,e equilibri metabolici.

Oltre all'azione antagonista del calcio (che agisce sostituendo o spostando il Fe nei chelati che si formano con gli escreti radicali) è risaputo che le forti concimazioni fosfatiche elevano il fosforo idrosolubile e possono provocare clorosi ferri- che,per innalzamento del rapporto P/Fe e precipitazioni del ferro come fosfato di ferro nel suolo o nelle piante.Anche in recenti indagini italiane il rapporto P/Fe nel terreno è risultato correlato positivamente con l'indice del potere clorosante (FREGONI e BAVARESCO,1.c.)(fig.n°2).

Inoltre alcuni anioni come il pirofosfato ($P_2O_7^{-4}$) e l'ortofosfato (PO_4^{-3}) agiscono inibendo la riduzione del Fe^{+++} a Fe^{++} . Rilevante è anche l'antagonismo con il manganese,il quale interverrebbe limitando il trasporto del ferro dalle radici ai germogli (EPSTEIN e STOUT,1951).Il rame agisce negativamente sulla nutrizione del ferro,interferendo sia nel processo di assorbimento inibendo la riduzione del Fe^{+++} ,sia nell'utilizzazione del Fe nelle piante.

Si può aggiungere che il K può correggere la ferro-carenza, soprattutto se dato come cloruro di potassio in luogo del nitrato e del fosfato;interverrebbe favorevolmente nell'equilibrio cationi/anioni a livello radicale (BARAK e CHEN,1983).Secondo DEKOCK (1983) invece il K^+ favorirebbe i movimenti del ferro nella pianta a causa del suo effetto tampone sugli ioni fosfato. L'antagonismo tra ferro e zinco,evidenziato dai vari reperti sperimentali (fig.n°3) non ha trovato ancora una chiara spiegazione biochimica per quanto riguarda il meccanismo di azione: sembra comunque che in questo caso si abbia una inibizione delle cellule transfer nella zona subapicale delle radici (LANDSBERG,1982).

L'interazione col molibdeno risulta difficile da interpretare perchè presenta comportamenti variabili (OLSEN,1972).Altri elementi quali Co,Cd,Ni,sembrano bloccare la differenziazione delle cellule transfer (LANDSBERG,1982).L'induzione alla clorosi

da parte di tutti gli elementi finora citati, generalmente cresce di intensità all'aumentare delle loro dotazioni nel terreno. Singolare comportamento, rispetto a tutti gli altri elementi, è quello dell'azoto, in particolare dello ione NO_3^- . Si è osservato che nella soia, nel tabacco, nell'avocado, elevati livelli di NO_3^- causavano clorosi ferrica (STEINBERG et al., citata da CHEN e BARAK, l.c.).

Il nitrato essendo il principale anione assorbito dalle radici, è direttamente implicato nella regolazione dell'equilibrio tra cationi e anioni e nella escrezione di OH^- . Assorbimenti elevati di NO_3^- quindi determinano altrettanto elevate escrezioni di OH^- che dà origine al bicarbonato responsabile dei fenomeni di clorosi. E' probabile quindi che i fenomeni di carenza ferrica, che nelle moderne agricolture sono frequenti, siano in parte il risultato di una selezione genetica fatta solo per il carattere alte produzioni, che richiedono forti concimazioni.

Infine ricerche condotte in Italia hanno messo in evidenza una relazione tra calcare attivo e indice di salinità, per cui si può ritenere che i terreni salati (ricchi di cloruri e di sodio) siano predisponenti alla clorosi (FREGONI e BAVARESCO, l.c.).

- Lavorazioni al terreno: facilitano l'ossidazione del ferro, portando in superficie il calcare e favorendo il suo sminuzzamento. Indirettamente agiscono rompendo le radici, per cui la non coltura e l'inerbimento diminuiscono la clorosi.
- Compattezza del terreno: nei suoli compatti, argillosi, l' H_2S microbico non riesce a fuoriuscire dal terreno e ad una certa concentrazione diviene tossico per le radici. Lo stesso effetto è dato dalle produzioni di etilene (C_2H_4) che inibisce la crescita e l'allungamento delle radici e probabilmente anche l'assorbimento del Fe (PERRET e KOBLET, 1983). La produzione di etilene è favorita anche dalla presenza di materiale organico in decomposto.
- Attività radicale: la diminuzione delle riserve glucidiche riduce la sintesi di acidi organici e altre sostanze chelanti, con conseguente minor assorbimento del ferro. E' da tener presente, inoltre, l'esistenza di una differenza genetica tra i vari portinnesti nell'assorbimento del Fe. Anche gli attacchi parassita-

ri alle radici (nematodi, fillossera, marciumi, virus) possono diminuire l'assorbimento del Fe. Le forti produzioni a ceppo riducono i depositi glucidici nelle radici e di conseguenza si riduce la sintesi dell'acido citrico, il maggiore chelante radicale del Fe.

- Affinità d'innesto: il callo d'innesto, in particolare nelle combinazioni poco affini, rappresenta un ostacolo per il trasporto acropeto del ferro e per il trasporto basipeto dei glucidi dai quali vengono sintetizzate le sostanze chelanti nelle radici.
- Fabbisogni in ferro delle varietà: vi sono vitigni che sono più esigenti in ferro di altri a causa di una traspirazione più elevata, accrescimento vegetativo più intenso, produzioni più elevate, ecc...
- Forma di allevamento: i sistemi di potatura, alti, espansi, vigorosi, molto produttivi, a bassa densità di piantagione vanno più soggetti alla clorosi, per difficoltà di trasporto e per incremento dei fabbisogni in Fe.
- Temperatura: le basse e le alte temperature non consentono l'assorbimento del ferro.
- Illuminazione: l'intensa insolazione provoca la distruzione delle proteine che proteggono la clorofilla.

CORREZIONE DELLA FERRO-CARENZA

A) Prevenzione

L'aspetto preventivo nel capitolo della clorosi ferrica, è l'unico capace di risolvere definitivamente il problema. Si tratta di ottenere attraverso il miglioramento genetico, portinnesti resistenti al calcare e capaci di garantire alla parte europea un adeguato rifornimento in ferro e, dall'altra parte, selezionare nuovi vitigni resistenti alla ferro-carenza.

La resistenza dei portinnesti si traduce in pratica in alcuni adattamenti biochimici e citologici, già discussi in altro capitolo che in sostanza consentono alla pianta di assorbire più ferro (capacità di diminuire il pH, alto potenziale redox, aumentata produzione di peli radicali, maggiore formazione di cellule transfer).

E' opportuno quindi, in previsione dell'impianto di un vigneto conoscere le caratteristiche fisico-chimiche del terreno, in particola-

re il contenuto di calcare attivo e di ferro, per poter scegliere il portinnesto adatto. Si tratta di una scelta molto impegnativa, proiettata a lungo termine che può significare il successo o il fallimento dell'impianto.

Esiste comunque una tecnica di reinnesto che consente di sostituire il portinnesto a qualsiasi stadio del ciclo vitale delle piante, rimediando all'errore occorso all'impianto (FREGONI, 1984).

Sempre nel settore della prevenzione, FREGONI e BAVARESCO (1.c.) hanno messo a punto un indice pedologico, espressione della potenzialità clorosante di un terreno, in base alla valutazione di alcuni parametri del suolo (calcare attivo, ferro disponibile, I.P.C., argilla, sostanza organica, P_2O_5 disponibile), che secondo la letteratura sono legati al fenomeno della clorosi (FREGONI, 1980). Questo indice ha permesso di discriminare le diverse situazioni pedologiche a rischio più o meno elevato di clorosi (fig. n°5; Tabla 3).

Attualmente i portinnesti più resistenti alla clorosi ferri-
ca da calcare sono il Fercal, il 140 Ru, il 133 E.M. ed il 41 B.

B) Terapia

1) Trattamenti fogliari

Si possono suddividere in quattro gruppi di prodotti:

- sali inorganici di ferro (in particolare il $FeSO_4$; $Fe(NO_3)_2$) furono i primi ad essere impiegati, addizionati di acido citrico
- lignosulfonati di Fe
- poliflavonoidi di Fe
- chelati di Fe
- protalosati, omogeneizzati (chelati di aminoacidi e polipeptidi di origine vegetale).

I prodotti minerali presentano l'inconveniente di non risolvere definitivamente il problema, perchè il ferro contenuto in essi è poco traslocabili all'interno delle piante (> 50%), e a volte può diventare fitotossico poichè arriva nelle foglie repentinamente e ad alte concentrazioni, non metabolizzabili, anche per carenza di composti organici chelanti (FREGONI et al., 1984).

Esperimenti compiuti in serra hanno evidenziato che l'aggiunta di urea e nitrato ammonico favorisce l'assorbimento fogliare del ferro. Lo stress da accesso di Fe^{++} è rilevabile dall'altera-

zione del metabolismo degli aminoacidi (eccessiva presenza di prolina, tipico prodotto di piante stressate). I composti organo-metallici riducono l'effetto stressante e facilitano la metabolizzazione del Fe.

2) Iniezioni nel tronco

Si usano soluzioni di solfato ferroso al 5-10%, più acido citrico sono spesso tossiche. Per lo stesso scopo si utilizza, prima del pianto delle viti, anche il citrato di ferro-ammonio, sotto forma di capsule, con discreti risultati. Spesso si verifica fitotossicità da accesso di Fe. Questi prodotti hanno dato buoni risultati anche in prove fatte sul melo e sul pero (BARNEY et al., 1983).

3) Trattamenti al terreno

a) Sali inorganici di ferro: vengono usati soluzioni di solfato ferroso al 10% (circa 10 l/ceppo) ponendoli in un solco od in fori che debbono essere richiusi (FREGONI, 1982).

Il solfato ferroso può essere distribuito ed interrato anche allo stato solido, assieme a sostanza organica umificata.

b) Chelati di ferro sintetici: l'uso di queste sostanze è il metodo più diffuso per la correzione della ferro-carenza, sempre in combinazione con sostanza organica.

Per chelato metallico si intende l'unione di più complessi metallici tenuti assieme da leganti (ioni o molecole che circondano lo ione ferrico sostituendo molecole d'acqua). Quando il complesso metallico è stabile e solubile, il legante è chiamato agente sequestrenante.

Tra queste sostanze la prima ad essere usata fu l'EDTA, seguita dallo EDDHA e dal DTPA.

Vengono usate normalmente in veicolo acquoso e distribuite in un solco, che viene subito ricoperto di terra. Si possono usare anche mediante l'irrigazione a goccia, con il vantaggio di diminuire di molto la quantità di prodotto da distribuire.

Ciascun chelato presenta un particolare comportamento nei vari tipi di terreni: ad esempio il Fe-DTPA dà i suoi migliori risultati nei terreni sabbiosi e con pH circa uguale a 7, il Fe EDDHA dà buoni risultati ovunque, anche se il suo uso è limitato a causa dell'elevato costo.

c) Complessi ferrorganici: sono costituiti da rifiuti solidi or-

ganici arricchiti o meno con ferro, derivanti da sottoprodotti di origine animale e vegetale, e della lavorazione del legno (poliflavonoidi e lignosulfonati), nonché della spazzatura di città. La loro efficacia è dovuta alla stretta affinità con la sostanza organica del suolo che, come è noto, ha una grande capacità nella chelazione del metallo. Alcune prove sono state effettuate anche usando carbone, lignite e torba, con risultati inferiori a quelli ottenuti con i chelati sintetici, come il Fe-EDDHA.

BIBLIOGRAFIA

- BARAK, P.; CHEN, Y. "The effect of potassium fertilization on iron deficiency". 2nd Int. Symp. Iron nutrition and interactions in plants. Logan, Utah (USA). (1983).
- BARNEY, D.; WALSER, R. H.; NELSON, S.; WILLIAMS, F. "Control of iron chlorosis in deciduous fruit trees with injections of ferrous sulfate". 2nd Int. Symp. Iron nutrition and interactions in plants. Logan, Utah. (USA) (1983).
- CHANEY, R. L.; BROWN, J. C.; TIFFIN, L. O. *Plant Physiology*, 50, 208-213. (1972).
- CHEN, Y.; BARAK, P. *Adv. in Agronomy*, 35, 217-240. (1982).
- COULOMBE, B. A.; CHANEY, R. L.; WIEBALD, W. J. "Use of bicarbonate in screening soybeans for resistance to iron chlorosis". 2nd Int. Symp. Iron nutrition and interactions in plants. Logan, Utah. (USA). (1983).
- DEKOCK, P. C. "Potassium iron interactions". 2nd Int. Symp. Iron nutrition and interactions in plants. Logan, Utah. (USA). (1983).
- EPSTEIN, E.; STAUT, P. R. *Soil Science*, 72, 44-47. (1951).
- FREGONI, M. "Nutrizione e fertilizzazione della vite". Edagricole. Bologna (Italia). (1980).
- FREGONI, M. *Vignevini*, 3, 19-25. (1982).
- FREGONI, M. *Vignevini*, 12, 9-10. (1984).
- FREGONI, M.; BAVARESCO, L. "Ricerche sugli indici pedologici relativi alla scelta dei portinnesti della vite" (In litteris).
- FREGONI, M.; BOSELLI, M.; BARTOLETTI, C.; DOROTEA, G. "Variazioni biochimiche e produttive in viti clorotiche stressate per carenza od eccesso di ferro somministrato per via epigea". (In litteris).
- HAVLIN, J. L.; SOLTANPOUR, P. N. *J. Plant Nutrition*, 5 (4-7), 769-783. (1982).
- HAVLIN, J. L.; SOLTANPOUR, P. N. *Soil Science*, 137(3), 188-193. (1984).
- HETHER, N. W.; OLSEN, R. A.; JACKSON, L. L. "Chemical identification of iron reductants exuded by plant roots". 2nd Int. Symp. Iron nutrition and in-

- interactions in plants. Logan, Utah. (USA). (1983).
- LANDSBERG, E. Ch. J. Plant Nutrition, 5(4-7), 415-432. (1982).
- LANDSBERG, E. Ch. "Regulation of Fe stress response by whole-plant activity". 2nd Int. Symp. Iron nutrition and interactions in plants. Logan Utah. (USA). (1983).
- LINDSAY, W. L. "Soil and plant relationships with iron deficiency with emphasis on nutrient interactions". 2nd Int. Symp. Iron nutrition and interaction in plants. Logan, Utah. (USA). (1983).
- LOEPPERT, R. H. "Reactions of Fe^{++} and Fe^{+++} in calcareous systems". 2nd Int. Symp. Iron nutrition and interactions in plants. Logan, Utah. (USA). (1983).
- MILLER, G. W. Soil Science, 89, 241-245. (1960).
- OLSE, S. R. Soil Science Society of America, Inc. 243-264. Madison, Wisconsin (USA) (1972).
- PERRET, P.; KOBLET, W. "Soil compaction induced iron-chlorosis in grape vineyards: presumed involvement of exogenous soil ethylene". 2nd Int. Symp. Iron nutrition and interactions in plants. Logan, Utah. (USA). (1983).
- POUGET, R.; JUSTE, C. Connaiss. Vigne Vin, 6, 357-364. (1972).
- SMITH, B. N. "Iron in higher plants: storage and metabolic role". 2nd Int. Symp. Iron nutrition and interactions in plants. Logan, Utah. (USA) (1983)
- SMITH, M. J.; NEILANDS, J. B. "Rhizobactin, a siderophore from *Rhizobium meliloti*". 2nd Int. Symp. Iron nutrition and interactions in plants. Logan Utah. (USA). (1983).
- SPELLER, S.; TERRY, N. Plant Physiology, 65, 121-125. (1980).
- WALLACE, A. J. Plant Nutrition, 5 (4-7), 543-544. (1982).
- WALLACE, A. "Nitrogen and bicarbonate relationships with iron nutrition in plants" 2nd Int. Symp. Iron nutrition and interactions in plants. Logan, Utah. (USA). (1983).
- Wallace, A.; LUNT, O. R. Proc. Am. Soc. Hort. Sci., 75, 819-841. (1960).

Tabella 2.- Resistenza massima dei portinnesti al calcare (da FREGONI, 1980).

CALCARE TOTALE	%	CALCARE ATTIVO	%	I.P.C.
Riparia G	15	Vialla, Clinton, Labrusca	4	Vialla
Solonis, 216-3	15-20	Riparia, 196-17	6	Riparia G
3309	20-22	101-14	9	3309
Rupestres du Lot	22-25	44-53, 26 G, 1616	10	Rupestres du Lot
420 A, 34 EM, 5 bb, 110 R,				
99 R, S04	25-35	3306, 3309, 216-3	11	99 R, S04
161-49	40-50	Rupestres du Lot, 31 R	14	RSB 1
140 R	45-50	5 R, 1045 P	15	161-49, 41 B
41 B, BC 1, BC 2, BC 3,	50-55	99 R, 110 R, 225 R, 17-37		333 EM
333 EM	55-60	775 P, S04	17	140 R
		5 BB, 420 A, 34 EM, 779 P,		
		1103 P	20	Fercal
		157-11	22	
		161-49	25	
		1447 P	26	
		41 B, 333 EM, 140 R	40	

Tabella 3.- Valori dell'indice rischie clorosi e sus determinazione nelle varie sottozone.

Sottozone	CaCO ₃ att. %	Punti 0-20	Fe ppm	Punti 0-20	I.P.C.	Punti 0-20	Argilla %	Punti 0-12	Sost. org. %	Punti 0-10	P ₂ O ₅ ppm	Punti 0-8	Ricchio clorosi
1	2,09	1	5,30	17,0	1036	15,0	10,0	0	0,64	8	24,7	4	45,0
2	4,05	3	5,03	17,0	1594	17,0	29,3	5	1,24	3	15,4	1	46,0
3	10,02	9	15,50	13,0	424	12,0	31,9	6	1,11	4	17,2	2	46,0
4	4,70	3	13,70	13,0	250	11,0	12,1	1	0,97	5	12,7	0	33,0
5	10,50	9	26,80	11,0	146	10,0	36,1	7	1,05	4	14,8	1	42,0
6	14,10	14	35,70	8,0	111	10,0	41,4	9	0,91	5	9,9	0	46,0
7	14,70	14	39,90	6,5	92	8,0	35,8	7	1,17	3	34,9	5	43,5
8	9,50	8	27,80	11,0	112	10,0	38,7	8	1,08	4	12,7	0	41,0
9	10,60	9	32,50	9,0	100	9,0	26,2	4	1,53	0	44,3	5	36,0
10	11,70	11	29,10	10,5	138	10,0	32,8	6	1,29	2	19,5	3	42,5
11	14,20	14	49,40	5,0	58	5,0	37,5	8	0,85	6	19,9	3	41,0
12	12,00	12	36,90	7,5	88	8,0	43,0	10	0,86	6	11,6	0	43,5
13	10,90	9	38,20	7,0	75	6,5	43,8	7	0,76	7	14,5	1	37,5
14	8,30	7	24,50	11,5	138	10,0	34,0	7	1,24	3	20,4	4	42,5
15	6,20	5	7,00	16,0	1254	16,0	16,3	1	1,36	2	82,8	7	47,0
16	8,50	7	30,90	10,0	89	8,0	21,4	3	1,18	3	18,5	3	34,0
17	12,60	12	32,30	9,0	121	10,0	26,9	4	0,92	5	23,0	4	44,0
18	9,55	8	27,20	11,0	128	10,0	30,7	5	0,84	6	15,2	1	41,0
19	16,50	16	24,40	11,5	278	11,0	39,2	8	0,92	5	38,8	5	56,5
20	11,50	11	29,50	10,5	132	10,0	25,8	4	1,14	3	36,9	5	43,5
21	14,60	14	41,30	6,0	85	7,5	40,3	8	1,11	4	8,0	0	39,5
22	14,70	14	58,30	3,0	43	3,0	36,3	7	1,14	3	17,1	2	32,0

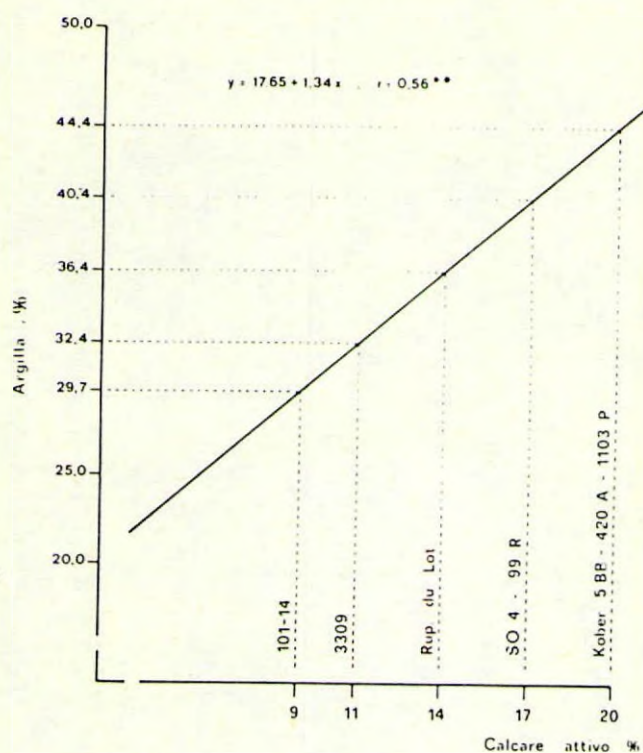


Fig. n° 1.- Correlazione positiva tra calcare attivo e argilla. Limiti di resistenza teorica di diversi portinnesti a contenuti crescenti di argilla.

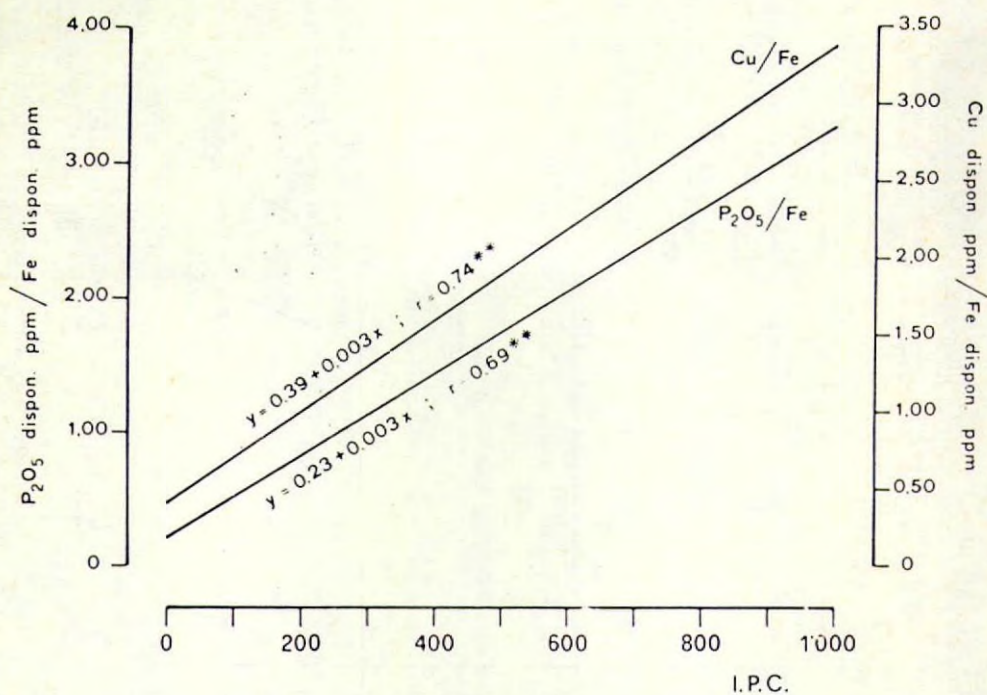


Fig. n° 2.- Variazione dei rapporti P_2O_5/Fe e Cu/Fe , all'aumentare dell'IPC.

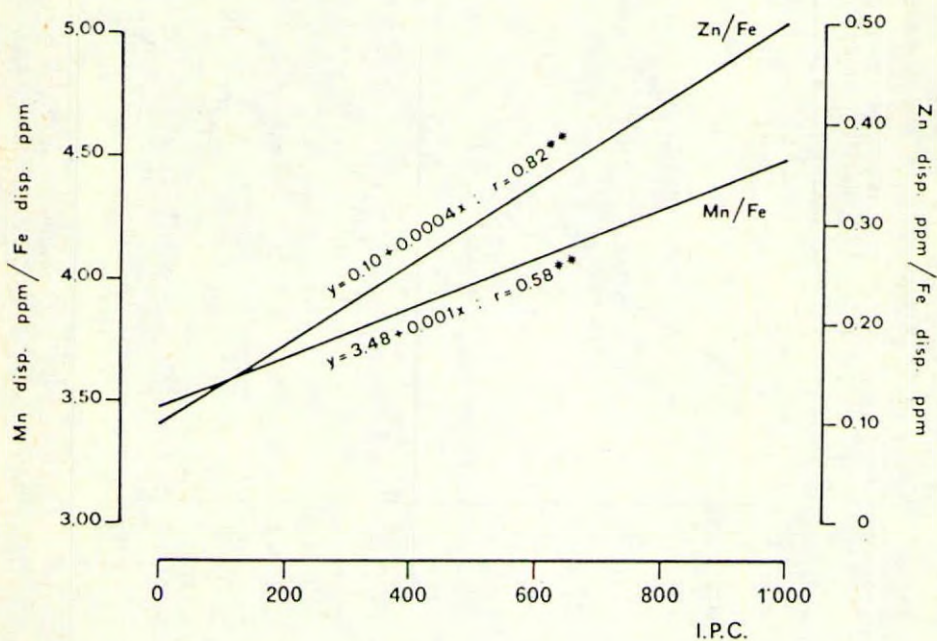


Fig. n° 3.- Variazione dei rapporti Mn/Fe e Zn/Fe all'aumentare dell'IPC.

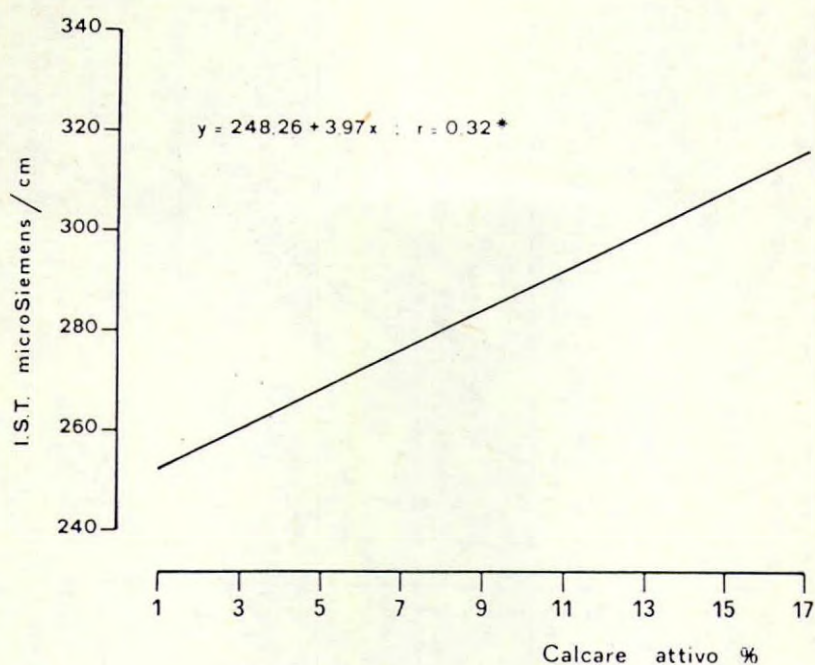
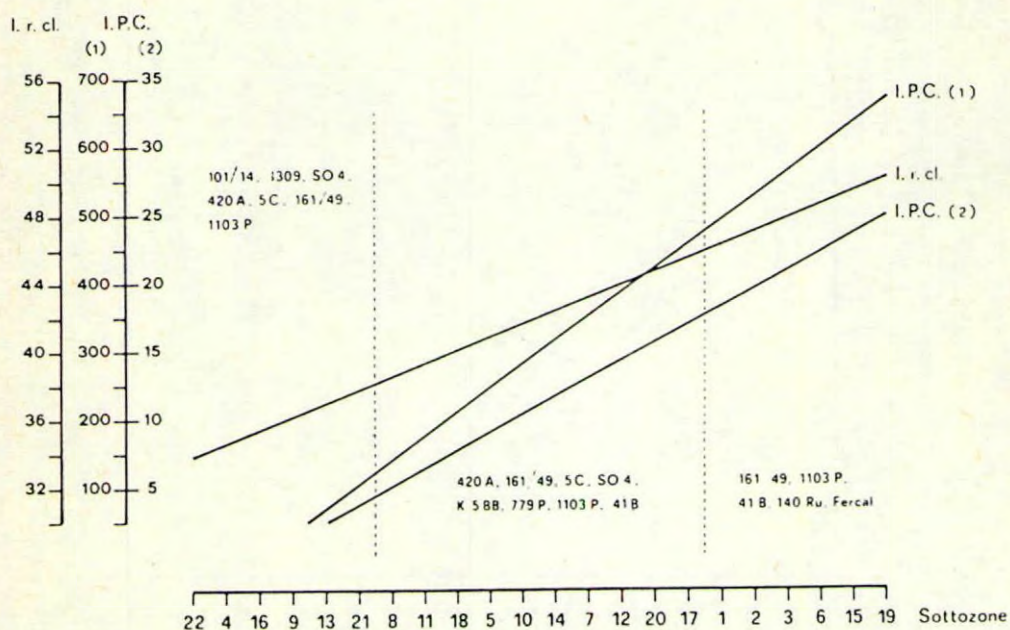


Fig. n° 4.- Correlazione positiva tra calcare attivo e indice di salinità.



Fig, n° 5.- Andamenti dell'indice rischio clorosi (I.r.Cl.), dello IPC e assegnazione dei portinnesti nelle diverse sottozone. Va tenuto presente che i portinnesti sono stati scelti anche in funzione di altri parametri.

DESCRIPCION RESUMIDA DE LA TECNICA ENOLOGICA DE LOS VINOS DE JEREZ

Justo F. Casas Lucas

Centro de Investigación, Desarrollo y Control de Calidad de Gonzalez Byass
S.A. de Jerez de la Frontera.

I.- INTRODUCCION

Hoy nos acompañan en nuestras III JORNADAS UNIVERSITARIAS SOBRE EL JEREZ, organizadas por la Facultad de Ciencias de la Universidad de Cádiz, los miembros de la Academia Italiana de la Vid y del Vino, la primera corporación que se ha creado en el mundo para abordar el tratamiento de los temas específicamente relacionados con la viña y los vinos al nivel de rango académico.

Además de las reuniones habituales en su sede oficial de Siena, es costumbre de esta Academia celebrar varias "tornatas" anuales en regiones vitivinícolas previamente seleccionadas, durante las cuales incluyen en sus programas alguna conferencia sobre la vitivinicultura y sus problemas en la región, generalmente expuestos por algún miembro de la misma.

Agradecemos muy sinceramente a la Academia Italiana de la Vid y del Vino que haya sido España el primer país escogido para celebrar una "tornata" extranjera, y Jerez la primera zona vitivinícola para reunirse en ella y conocerla.

Pero al mismo tiempo algunos académicos han deseado participar en nuestras Jornadas Universitarias, y así ayer los profesores Usseglio -

Tommaset y Fregoni han presentado sendas magistrales comunicaciones sobre Enología y Viticultura; al final de la presente sesión tendremos un informe del Presidente Prof. Scaramuzzi.

Como consecuencia expresiva de la recíproca predisposición y colaboración, hoy celebramos una sesión conjunta, por decisión de las Jornadas Universitarias y de la Academia. Entre otras intervenciones y siguiendo la citada costumbre de la Academia, me ha sido encargada una exposición de las características fundamentales que personalizan a la original y clásica técnica enológica desarrollada en la crianza de los vinos de Jerez. Perdonadme si hablo un apenas discreto italiano; verdaderamente me duele y lamento que después de haber conocido y hablado de manera aceptable para un extranjero esta rica y bella lengua en 1950 y 51, hoy la tengo casi olvidada, principalmente porque ocasiones de hablarla no se me presentan sino raras veces. Deseo, por tanto, aclarar a los muchos jerezanos presentes que los temas que voy a tratar les son familiares; si tienen la paciencia de soportarme irán oyendo citar ideas y cosas para ellos bien conocidas.

Es un gran honor para mi hablar de los vinos de Jerez a los egregios miembros de la Academia Italiana de la Vid y del Vino. Tan prestigiosa corporación me distinguió acordando mi ingreso en la misma en 1966; lamentablemente, solo recuerdo haber asistido a muy pocas reuniones, algunas durante mi estancia en Italia en 1950 y 51, antes de tal distinción, y otras más recientes celebradas en Milán con ocasión del SIMEI. La Academia Italiana de la Vid y del Vino es sin duda la institución nacional de máximo prestigio hoy en la ciencia y técnica de la vid y del vino. Nunca podré olvidar los nombres insignes de Dalmasso, mi querido y gran maestro Garino-Canina, Mensio, Tarantola, Garoglio, Malan, Castelli, etc.; los trabajos en plena fecundidad de Usseglio-Tommaset (querido amigo desde hace más de veinticinco años y una de las máximas autoridades de la enología mundial

contemporánea), Fregoni, Cantarelli, Florenzano, Carlone (joven Profesor Adjunto de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Turín cuando yo era alumno de la misma) y tantos otros para los cuales he profesado siempre una gran admiración. En fin, son académicos los nombres más ilustres del mundo relacionados con la enología y la viticultura, o bien la economía, la historia o el comercio de los vinos o de su producción.

Perdonadme si comienzo expresando una confidencia personal muy sincera: después de más de treinta años trabajando sobre múltiples aspectos de los vinos de Jerez, me resultan cada día más complejos e interesantes, al tiempo que encuentro en su estudio una proporción creciente de apasionantes incógnitas, de factores y circunstancias que por el momento escapan a su conocimiento y comprensión, lo que inevitablemente produce cierto desasosiego y reto al investigador.

Entiendo que las causas de todo ello residen en la riqueza, originalidad y peculiaridad de los caracteres organolépticos de estos vinos, la variedad de tipos y calidades a que pueden dar lugar sus originales técnicas y la singularidad científica que algunos de sus procesos pueden ofrecer a los estudiosos.

Tal riqueza, originalidad y variedad han motivado incontables preguntas que en las más diversas ocasiones me han dirigido investigadores, técnicos, historiadores, aficionados o amigos de los vinos, escritores, gastrónomos, personas con mente inquisitiva o simplemente curiosa, estudiosos en general, etc.

Pero al mismo tiempo su prestigio y universalidad han inducido a escribir sobre los vinos de Jerez a muchos autores en las más diversas partes del mundo. Algunos, bien conocidos, a los que tenemos que agradecer su honradez intelectual ejemplar, buscando en el complejo mundo del jerez

las verdades auténticas con métodos de estudio planteados con el máximo rigor científico. En otras ocasiones se han tratado estos temas con suma ligereza y no poco desconocimiento; se han escrito tantos errores, despropósitos, inexactitudes, etc., que después de leer la mayor parte de lo publicado (incluso a veces por destacados enólogos) pienso que no es fácil para un extranjero comprender claramente la realidad, adquirir en breve espacio de tiempo algunas ideas precisas sobre las líneas básicas de trabajo en las bodegas de Jerez así como, sobre todo, lo que hoy creemos pueda ser su interpretación enológica más probable.

Por tanto, una síntesis fidedigna y breve de los rasgos fundamentales de las técnicas y conocimientos enológicos de los vinos de Jerez será mi objetivo en la presente exposición, convencido, por mi parte, de que no puede ser exhaustiva ni recoger todos los casos y variantes y de que la ciencia y la técnica están siempre en continua evolución por lo general progresiva; lo que exponga con carácter descriptivo aunque no sea norma técnica única en la región, creo es bastante válido; todo aquello que pueda considerarse interpretativo no tiene otro valor que el de mi punto de vista actual.

II.- LAS LEVADURAS DE "FLOR"

Para aclarar las ideas sobre los vinos de Jerez (en inglés y en general en el mundo "sherry") diré enseguida que toda su original tecnología está basada en un hecho espontáneo en esta región: si un vino con grado alcohólico aproximadamente no superior al 16 % en volumen se deja en contacto con el aire, en cualquier clase de recipiente sin llenar, a una temperatura media que puede estimarse en líneas generales entre 14 y 22 gra-

dos centígrados, al cabo de pocas semanas se observan algunos puntos blancos en su superficie, que van inevitablemente aumentando de número y creciendo de tamaño hasta unir por completo sus bordes, constituyendo una especie de "velo", "film" o "nata" que recubre toda la superficie del vino y que llega a formar pliegues y adquirir el aspecto de una capa rugosa de algunos milímetros de espesor.

El citado velo puede permanecer varios años sobre el vino, dando lugar a notables transformaciones en sus componentes, lo que se refleja en las peculiares cualidades organolépticas que van apareciendo y evolucionando con el tiempo, conduciéndole hacia un vino sumamente fino y distinguido.

El fenómeno natural es conocido desde hace algunos siglos en esta región, ha sido utilizado empíricamente para aplicarlo de diversas formas a los procesos industriales de elaboración de los vinos de Jerez, desarrollando una gama de calidades de tal interés y prestigio que han traspasado nuestras fronteras para ser estudiadas y adaptadas de muy diversas maneras en las más lejanas zonas vitivinícolas del mundo.

Desde que es conocido en Jerez, se ha llamado a este velo la "flor", y al tiempo de varios años durante el que actúa, la "crianza de flor". Crianza significa en italiano "allevamento". Nunca, pues, mejor utilizado el nombre de crianza en enología, puesto que unos organismos vivos están "criando" el vino durante un tiempo en el que sin su presencia y actividad tendría lugar un simple proceso de envejecimiento. Por este motivo se conoce también con el nombre de "envejecimiento biológico".

¿Cuáles son las noticias más verosímiles que hoy tenemos sobre todo ello?

Aunque no soy microbiólogo ni mucho menos taxónomo, intentaré

ofrecer un resumen del desarrollo histórico de las ideas sobre el aspecto microbiológico del tema.

Los primeros ensayos de explicación o interpretación del curioso fenómeno aparecen lógicamente en la segunda mitad del siglo XIX. Se refieren siempre a observaciones macroscópicas de los velos que algunos autores consideran formados por levaduras pertenecientes al género "Mycoderma", aunque también dejan constancia de sus dudas y poca verosimilitud, ésta última en función de los resultados enológicos de su actividad en el vino.

En 1930 se ocupa Marcilla de las levaduras de "flor" y encuentra que pertenecen al género "Saccharomyces", pero no continúa de momento sus trabajos, sino que propone un estudio completo que realizará más tarde en colaboración con Alas y Feduchy. El último me informó personalmente que Marcilla hizo una comunicación verbal sobre sus conclusiones con ocasión del III Congreso de la Oficina Internacional del Vino celebrado en Roma en 1932.

En 1933 visitan la región de Jerez dos investigadores soviéticos, Guerasimov y Prostosserdov, se interesan por el tema y recogen algunas muestras de velo de "flor" que llevan a su país.

En los años inmediatos tanto Marcilla, Alas y Feduchy en España, como Prostosserdov y Afrikian en la Unión Soviética, estudian y clasifican las levaduras de "flor", al parecer sin tener conocimiento ninguno de los dos equipos de los trabajos simultáneos del otro.

Ambos llegan a la conclusión incontestable de que las levaduras de "flor" pertenecen al género "Saccharomyces"; pero mientras Marcilla, Alas y Feduchy crean para ellas una nueva especie a la que llaman "beticus" (dentro de la cual establecen tres razas alfa, beta y gamma), Prostosserdov y Afrikian también encuentran diferencias taxonómicas con las especies por

entonces aceptadas (que por cierto no coinciden con las descritas por Marcilla y colaboradores), y estiman a su vez que corresponde considerarlas como una nueva especie para la que, en honor a Jerez de donde proceden, proponen el nombre completo de "*Saccharomyces Xeresiensis* o *Cheresiensis*". Schanderl en Alemania, en 1936, confirma experimentalmente la clasificación de Marcilla.

Levaduras de "flor" tomadas de diversas bodegas y zonas han sido estudiadas en épocas más recientes por diversos investigadores, quienes basándose en líneas generales en los criterios de la escuela taxonómica de Delft (en la que han ido trabajando sucesivamente Stelling, Dekker, Diddens, Lodder y últimamente Kreeger-van Rij) las han clasificado siempre como género *Saccharomyces*; pero, además de "beticus" y "xeresiensis", han ido creando o adscribiendo sus especies entre las siguientes: "oviformis", "fermentati", "chevalieri", "montuliensis", "hispanica", "gaditensis", "cordubensis", "bayanus", etc. Las diferencias en la clasificación aparecen fundadas unas veces en el distinto comportamiento de las levaduras estudiadas en pruebas metabólicas con valor taxonómico y otras en el criterio de apreciación de este valor.

Sin embargo, Kreeger-van Rij considera varias de ellas (quizá las más típicas levaduras de "flor") como sinónimas de "*Saccharomyces bayanus*". Dados los evolutiva y progresivamente cambiantes criterios taxonómicos, tómese todo lo dicho como desarrollo histórico pasado y admitamos la posibilidad de nuevas clasificaciones, sinonimias y reducciones o limitaciones.

En vista de que la mayor parte de las levaduras citadas se comportan como típicas de "flor", mientras hay estirpes o cepas de las mismas especies que no son conocidas hasta la fecha por su capacidad para formar velo, cada día son más los investigadores que aunque nos dan el género

y especie que consideran oportuno en cada caso, las denominan generalmente levaduras de "flor" o levaduras de Jerez; concretamente en la literatura inglesa es frecuente leer "flor yeasts" o "jerez yeasts".

Dejemos a los estudiosos de la taxonomía estos problemas y centrémonos en los aspectos enológicos, porque lo que puede afirmarse como rigurosamente cierto es que las levaduras están en nuestras bodegas, forman los velos, crían los vinos, les comunican características y cualidades orgánolépticas sumamente originales y distinguidas y, en fin, constituyen la base sobre la que se ha edificado la técnica de crianza de los vinos de Jerez

Veamos a continuación algunos de los aspectos principales de su actividad.

III.- NATURALEZA REDUCTORA DE LA CRIANZA DE "FLOR"

Imaginemos un tonel (en Jerez llamamos bota) de roble americano de unos 600 litros de capacidad que contiene aproximadamente 500 litros de vino y unos 100 litros de aire. Supongamos que en la superficie del vino se ha desarrollado un velo de "flor", y que en la boca de la bota hay un tapón ligeramente superpuesto.

Una primera circunstancia observable antes de llegar al vino es que el aire que ocupa la parte alta de la bota se va empobreciendo en oxígeno, al tiempo que aparece un incremento en su contenido en anhídrido carbónico, hasta que por trasiegos u otras operaciones se produce una renovación de la atmósfera de la bota. Quizá esta circunstancia, que considerada aisladamente nos dice que allí tiene lugar algún proceso de oxidación, ha inducido a muchos autores a escribir sobre la fase oxidativa de la levadura (por contraposición a la fase fermentativa) y a considerar el

proceso de crianza como un proceso de oxidación del vino.

Lo verdaderamente interesante de la levadura de "flor" es que, terminada la fermentación alcohólica del mosto y agotados los azúcares fermentescibles, tiene la capacidad de desarrollarse en la superficie del vino y permanecer allí en una fase de vida aerobia, en la que, además del oxígeno del aire, utiliza, metaboliza o transforma algunos componentes del vino, con las consecuencias organolépticas para este vino que ya hemos citado de paso, y que resumiremos en lo posible en sus principales aspectos más adelante.

Es curioso que el velo entero de una bota no metaboliza en todo un año más allá de unos pocos gramos de componentes orgánicos del vino, según lo que conocemos, con lo que resulta que una tan relativamente importante cantidad de biomasa, como vereis mañana al visitar la bodega, se desarrolla y vive con un consumo realmente ínfimo de materiales asimilables.

Creo fué Bobadilla (quien con Quirós, Serrano, Freyre y Navarro estudiaron algunos aspectos de los mostos y vinos de Jerez en 1943-54) el primero en considerar que el color amarillo pálido que el vino mantiene durante su crianza sólo podía explicarse si se admitía que no era un proceso oxidativo; su interpretación principal fué que el velo actúa como una capa aislante entre el vino y el oxígeno del aire.

En 1961, en colaboración con Arnedo y Regife, determinamos el potencial redox del vino bajo velo en numerosas botas y circunstancias, siempre industriales, en varias bodegas de Jerez. Algunos de los resultados figuran en un informe sobre fenómenos redox en los vinos presentado al X Congreso de la Oficina Internacional de la Viña y del Vino celebrado en Tbilissi, Unión Soviética, en 1962.

Aunque en puro rigor físico-químico las medidas de potencial

redox solo alcanzan su pleno significado cuando se refieren a sistemas reversibles inmediatos en sus respectivas reacciones e intercambios con el electrodo de platino, las medidas en vinos, tomando las debidas precauciones, tienen para ciertos casos un valor suficientemente orientativo.

Nosotros encontramos que en los vinos oxidados los potenciales redox eran siempre superiores a 420 milivolts expresados frente al electrodo normal de hidrógeno. En cambio en los vinos bajo velo no superaban nunca los 380 mV. A lo largo de numerosas medidas en vinos en plena crianza de "flor", realizadas tomando las debidas precauciones, en diferentes bodegas y épocas del año, obteníamos como datos más frecuentes de 320 a 360 milivolts.

Algunos estudios realizados, casi siempre en laboratorio, en diversos países (Universidad de California, Australia, Unión Soviética y Sudáfrica), han conducido a datos potenciales redox próximos a los citados.

Nosotros quisimos conocer la influencia que tenía para el vino su alejamiento del velo en el proceso de crianza; un ejemplo muy frecuente era que si el vino inmediato inferior o contiguo al velo daba 340 mV., éste aumentaba ligeramente a medida que el vino se alejaba de la superficie, para ser del orden de 350-360 mV. hacia la mitad de la altura del vino en la bota; sorprendentemente, al continuar el alejamiento del velo descendía el potencial redox, para llegar a ser en el vino próximo al fondo de unos 300-320 mV., alcanzando algunas veces los 280 mV.

Aunque puede considerarse el citado como uno de los casos más frecuentes en nuestras medidas, no siempre se da esta ordenación relativa de resultados, en la que lógicamente deben influir las circunstancias climatológicas o estacionales del momento en que se mide, así como las fases de máximo desarrollo de velo, las de hundimiento parcial o total del mismo

y las de su evolución en el fondo de la bota. Lo que si parece conclusión firme es la constante medida de potenciales redox que evidencian la crianza del vino en estado moderadamente reducido.

En consonancia con lo anterior, también sucedía que a medida que en un vino con su superficie limpia se iba cubriendo ésta con un velo de "flor", iba descendiendo su potencial redox.

Todo parece indicar, por tanto, que el metabolismo de la levadura es reductor con relación al vino, que mantiene a éste en estado moderadamente reducido durante la crianza de "flor", y que los sedimentos que se van acumulando en la bota al cabo de los años, procedentes del hundimiento periódico de trozos de velo (en Jerez estos sedimentos permanentes reciben el nombre de "cabezuelas") no permanecen inactivos, sino que posiblemente contribuyen a matizar organolépticamente el vino resultante del proceso global y desde luego fortalecen su carácter reductor.

He dicho en diversas ocasiones, ante no pocos enólogos e investigadores, que es el único caso que conozco en el mundo de un vino blanco que puede permanecer más de cinco años en madera, ni siquiera tapada en firme, y que al final de tanto tiempo no tiene carácter de oxidado. Hasta la fecha no he recibido comentarios desmintiéndolo. Pienso que esta circunstancia es importante desde el punto de vista enológico y hay que llamar la atención sobre los frecuentes errores que aparecen en la literatura de vinos al tratar este punto.

IV.- PROCESOS PRODUCIDOS POR LA LEVADURA DE "FLOR"

Las levaduras son organismos vivos, que se encuentran en el vino de crianza en circunstancias muy duras para su vida; por tanto, son sumamente sensibles en su actividad y resistencia a los diversos factores fi

sicos y químicos que sobre ellas de una manera natural actúan: grado de alcohol; temperatura; anhídrido sulfuroso; acidez o pH; proporciones de los componentes vínicos metabolizables; de factores de crecimiento; de posibles productos naturales, formados o de desecho que les sean adversos; etc. De ahí que el proceso global permanezca hoy día insuficientemente conocido y por tanto difícilísimo de dirigir hacia resultados matizados y precisamente preestablecidos.

Entre los procesos parciales de los que tenemos más noticias podemos citar la transformación de alcohol etílico en etanal o acetaldehído. Es conocido empíricamente desde finales del siglo pasado, pero en este momento lo podemos explicar diciendo que actúa como enzima catalizadora la NAD (Nicotinamida-adenina-dinucleotido) o Alcoholdehidrogenasa II, que pasa a NADH. Es más, un equipo del Instituto de Fermentaciones Industriales de Madrid formado por Llaguno, Fernandez, M.D. Garrido y J. Garrido encuentran en 1970 que las levaduras típicas de "flor" contienen proporciones elevadas de la citada enzima. Los niveles de actividad de sus extractos libres de células desarrolladas en los vinos de Andalucía son análogos a los extractos de células cultivadas en medio sintético a la misma concentración alcohólica, e investigan sobre la evolución de los contenidos en la citada enzima, en función de la edad del cultivo y del grado alcohólico. En 1972, Fernandez, García, Llaguno y J. Garrido aislan, en extractos libres de células, Alcoholdehidrogenasa I, inducible por glucosa, responsable, como es sabido, de la formación de etanol a partir de acetaldehído durante la fermentación alcohólica, y Alcoholdehidrogenasa II (o ADH oxidativa) que se induce nutricionalmente por etanol y es la que produce en los vinos la transformación bioquímica de etanol en acetaldehído. El contenido elevado en ADH II parece ser una cualidad específica de las levaduras típicas de "flor".

Pero el acetaldehído, que sin duda se encuentra presente en el bouquet característico de los vinos de crianza de "flor" (aunque pienso que pocas veces se identifica simplemente como tal en los vinos criados, sino más bien como si se le reconociera a través de sus derivados y formas de evolución), es un compuesto de enorme capacidad de reacción por las vías química y bioquímica; todo hace pensar que por ambas sufre transformaciones importantes en los vinos que matizan su carácter. Las más citadas hasta la fecha las podemos representar en el gráfico nº 1.

En la dirección 1 está representada su combinación con el anhídrido sulfuroso para dar ácido etanolsulfónico; es una reacción química reversible con una constante de equilibrio que nos dice que cerca del 100% de AcH está combinado si se encuentra con el SO_2 en proporciones moleculares aproximadamente iguales. Puesto que el contenido en SO_2 total de estos vinos es muy bajo y el de AcH varias veces superior, podemos concluir que en los vinos de crianza de "flor" no existe prácticamente SO_2 libre.

La dirección 2 ha sido citada a finales de siglo pasado. A ella han atribuido algunos investigadores la palidez característica de los vinos de crianza de flor. No está demostrado que tenga intervención en este sentido, ni sabemos si es reversible ni podemos decir mucho más con seguridad sobre la misma.

En la dirección 3 se representa la reacción de una molécula de acetaldehído con dos de alcohol etílico para dar dietilacetal. Cualquiera que sea la naturaleza de la formación del acetal durante la crianza, bioquímica o química, se comporta en todo momento como un proceso químico reversible, regido totalmente por su constante de equilibrio.

El porcentaje de aldehído acetalizado es constante para el conjunto de factores que intervienen en el equilibrio en cada vino, difi-

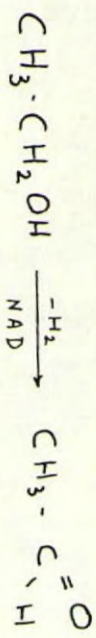
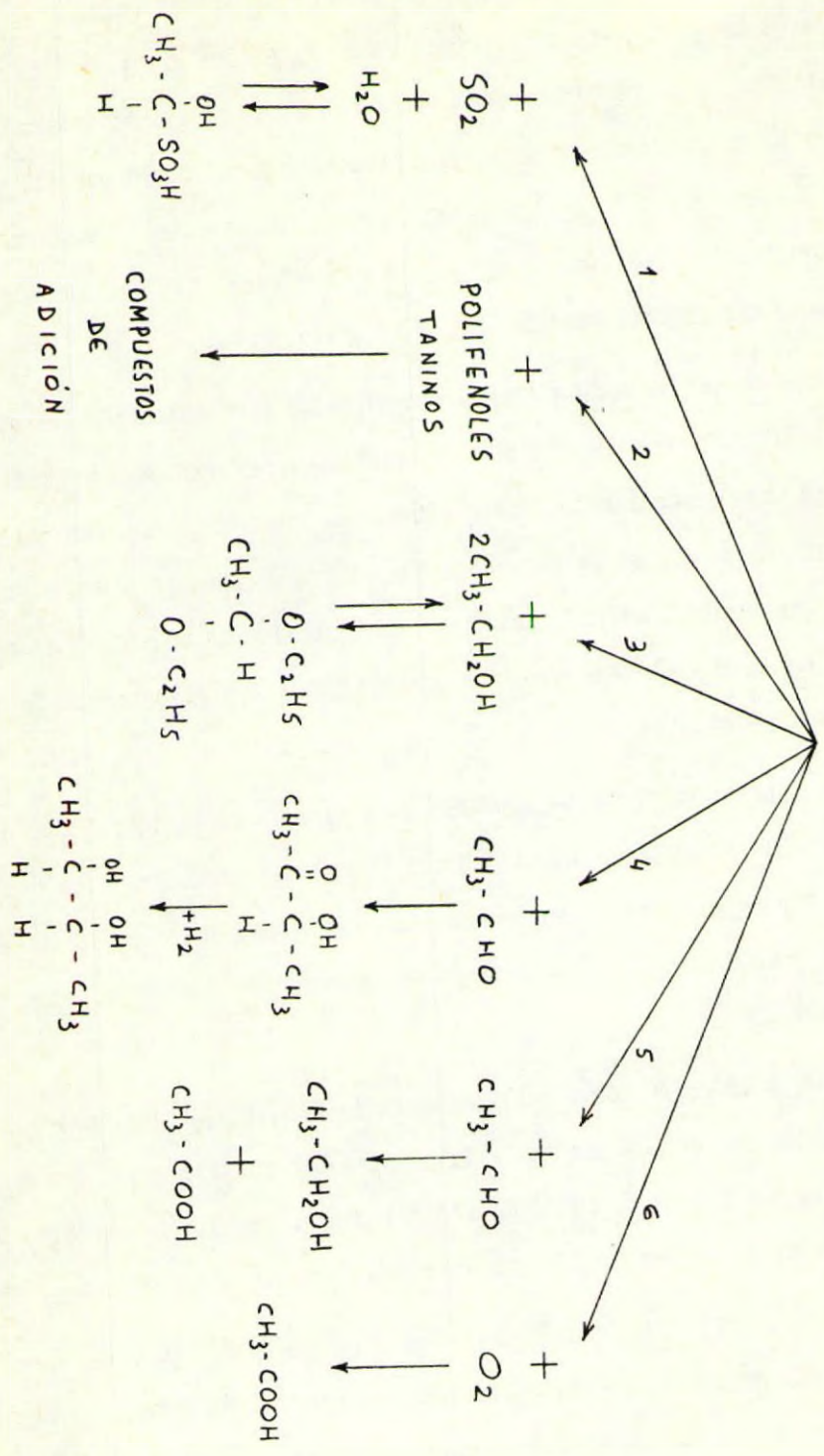


Gráfico N° 1



cilmente supera los 50-60 mg/L y desde luego no puede alcanzar las elevadas cifras que algunas veces aparecen en la bibliografía; sin duda éstas han sido obtenidas con métodos analíticos poco específicos que valoran como acetal otras formas de acetaldehído combinado.

El dietilacetal contribuye ciertamente al complejo bouquet de estos vinos.

Con referencia a la dirección 4, dos moléculas de acetaldehído dan lugar a una condensación acetoinica (es decir, por sus carboxilos) formandose acetilmetilmetilcarbinol, también llamado generalmente acetoina. Creo debemos considerar este proceso de naturaleza bioquímica e igualmente su reducción en muy elevadas proporciones a butilenglicol o 2,3-butanodiol.

La evidencia de esta cadena de reacciones surgió en los trabajos complementarios de mi tesis doctoral en 1952, recogida en una comunicación que presenté al X Congreso Internacional de Industrias Agrícolas celebrado en Madrid en 1954.

Las conclusiones fueron ratificadas en 1955 en colaboración con Arnedo y luego en 1959 por Saavedra y Garrido, quienes más tarde siguieron la formación de butilenglicol estudiando en laboratorio la actividad bioquímica de la levadura de "flor".

El investigador australiano Fornachon señaló en 1953 la posibilidad de una dismutación de dos moléculas de acetaldehído en el vino para formarse una de alcohol etílico y otra de ácido acético, según puede verse en la dirección 5 del gráfico. Parece que esta transformación ocurre ciertamente en la práctica, quizá en mayor proporción en verano, en que se observa frecuentemente un descenso del contenido en Ach paralelamente a un aumento muy limitado de ácido acético y alcohol; pero el ácido acético es metabolizado normalmente por la levadura y si el proceso no tiene otras de

rivaciones su trascendencia enológica es secundaria y se limita principalmente a la que se deriva de la pérdida de acetaldehído.

La dirección 6 nos recuerda que la oxidación puramente química del acetaldehído a ácido acético (a través de peróxidos o por el mecanismo químico que sea) es inevitable, aunque resulta prácticamente inapreciable a lo largo de la crianza, ya que al ser metabolizado el ácido acético apenas tiene reflejo en la composición del vino y no altera de manera sensiblemente medible los datos analíticos.

La compleja casuística que de este cuadro de reacciones y equilibrios se deriva, a la que hay que añadir las múltiples transformaciones todavía desconocidas, evidencian algunas de las razones de la diversidad de matices que ofrece, en cuanto a caracteres organolépticos, la crianza de "flor", sobre todo si se tiene en cuenta que nos estamos refiriendo a uno solo de los grupos de reacciones que durante la misma tienen lugar. Por otra parte, la acumulación de acetaldehído no es lineal ni regular en el vino durante su crianza de "flor", sino que sufre alternativas a veces importantes, coincidiendo los máximos con la primavera y los mínimos al final del otoño.

Son transformaciones típicas, también, durante la crianza de flor, la formación de ácido láctico, incluso en ausencia de ácido málico, que puede alcanzar más de 20 miliequivalentes/litro; la metabolización del ácido acético, que puede bajar en su contenido final hasta cifras del orden de 0,1 gramos/litro; el descenso continuo de la glicerina, que de 8 a 10 gr/litro en el vino del año puede quedar en menos de 1 gramo/litro; la evolución de los aminoácidos, de los cuales Carballo ha encontrado que la prolina llega a desaparecer en las manzanillas, etc.

Hay todo un mundo a estudiar, también, al que no parece haber

se asomado nadie, en la autólisis de la levadura de flor. A lo largo de la crianza el velo sufre cambios más o menos periódicos, en razón principalmente de los movimientos de vinos en las botas (sacas, trasiegos, corridas de escalas, rocíos, etc.) y de la marcha de las estaciones climatológicas. Existen diferencias notables de espesor, de actividad, e incluso inmersiones más o menos periódicas, parciales o totales, del velo, así como nuevos desarrollos. Las inmersiones del velo contribuyen a la formación de lias o "cabezuelas" en el fondo de las botas, que ya hemos visto por las medidas de potencial redox que no permanecen inactivas. En estas "cabezuelas" se encuentran diversos sedimentos naturales de los vinos, algunos de los cuales pueden sufrir lentas evoluciones junto a levaduras de "flor" en fase de autólisis o de esporificación.

En fin, la bibliografía enológica contiene hoy miles de páginas dedicadas a la crianza de "flor". El verdadero problema, muchas veces, consiste en "filtrar" esta montaña de ideas para entresacar, como el tiempo lo irá haciendo, lo correcto de entre lo erróneo; lo realmente riguroso y fiable, que habrá de confirmarse, de entre lo mucho que aún se nos presenta como complejo, dudoso o desconocido.

V.- EVOLUCION DE LOS CARACTERES

El vino para crianza de flor debe ser extremadamente franco, limpio y equilibrado, tanto en la nariz como en la boca, sano y exento de toda clase de defectos, puesto que la crianza exalta la finura del vino de la misma manera que refuerza algunos de sus defectos si los tiene.

Pero debe tener suficiente cuerpo, ya que los procesos bioquímicos de la levadura le van a empobrecer en este sentido.

La pérdida de ácido acético durante la crianza le quita esa

mínima dureza que este componente en contenidos normales aporta, mientras la desaparición casi total de la glicerina le transforma en un vino de aspecto ligero, fluido, ágil, alegre en la copa y flexible en la boca.

Se aprecia en el vino recién sacado de la bota de crianza un trasfondo de levadura más o menos evolucionada en su bouquet, que se pierde con la clarificación y filtración, pero del vino siempre emerge, con distintos matices, un complejo aroma sumamente peculiar y característico, al que llamamos "punzante" (palabra de difícil traducción a otro idioma) para expresar con precisión el carácter típico del vino de crianza de "flor" que todo lo domina, y que es, con mucho, el aroma más volátil que recuerdo haber encontrado en los vinos que conozco.

Un buen vino de "flor", bien criado, siempre será una obra maestra de la enología, en cualquier escuela enológica que se considere, y esto no lo digo yo, sino que me lo han confirmado en la bodega personalidades enológicas tan destacadas como Ribereau-Gayon, Peynaud, Amerine, Garoglio, Puissais, etc. algunos de las cuales lo han escrito en revistas, en los fondos de las botas o en los libros de honor de las bodegas.

VI.- EL SISTEMA DE SOLERAS O DE SOLERA Y CRIADERAS

No es costumbre, salvo en la fase inicial, dejar largo tiempo el vino en un mismo envase. Por el contrario, el vino va envejeciendo a través de su permanencia en diversas botas, con trasvases parciales preestablecidos en tiempo y proporción, de acuerdo con el clásico sistema de soleras de Jerez.

Se entiende por sistema de soleras no sólo la disposición de las botas, colocadas en filas superpuestas, de las cuales cada fila hori-

zontal, que recibe el nombre de escala, contiene vino en grado homogéneo de crianza, sino también, y quizá fundamentalmente su régimen de funcionamiento; es decir, la técnica o el método de trasvases o trasiegos, siempre parciales, a que se somete el vino y que hacen que en el curso de su envejecimiento y en su salida al mercado se distribuya de una manera muy extendida en el espacio y en el tiempo; con ello se trata de conseguir homogeneidad en cada escala y, por tanto, la mayor uniformidad posible en edad media y características organolépticas del vino que periódicamente sale al mercado.

Como puede verse en las fotografías adjuntas lo normal en las bodegas es que las botas se dispongan en tres o cuatro filas superpuestas, aunque un sistema de soleras pueda tener más escalas colocadas aparte.

La 1ª escala o criadera que es la que está más próxima al suelo, llamada por ello solera, es la que contiene el vino con mayor grado de crianza; de esta se toma el vino para el mercado y se reemplaza con vino de la 2ª criadera o escala; el vino sacado de ésta se reemplaza o rocía con vino de la 3ª y así sucesivamente.

Por falta de tiempo no podemos entrar en detalles, pero digamos que suelen hacerse de 3 a 4 sacas anuales, cada una de $1/3$ a $1/4$ del contenido de la solera o criadera 1ª.

El sistema de solera y criaderas se presta a estudios matemáticos interesantísimos sobre edades medias de los vinos y participación en las diferentes escalas de los procedentes de las diversas añadas. Según mis noticias Backer, Amerine y Roessler, de la Universidad de California, fueron los primeros en abordarlo en 1951 y 1952. Más tarde, con carácter económico, han realizado diversos cálculos García de Quévedo, Sánchez-Briñas y Collado. Pérez Rodríguez lo ha tratado en las II Jornadas Universitarias del Je

rez en 1982. Con un cálculo más elemental e intuitivo, buscando su aplicación sencilla a casos concretos, lo he considerado yo mismo en diversas conferencias y publicado un pequeño resumen en 1980.

En Jerez, las condiciones climatológicas son suficientes en horas-sol y horas-grado termométrico para alcanzar normalmente la madurez enológica propia del Palomino, al menos hasta ahora y para lo que hasta la fecha ha sido la carga normal de las cepas.

Hay diferencias lógicas de unos años a otros, pero no son, o no han sido hasta hoy, ni remotamente comparables a los casos de otras regiones en los que las uvas no todos los años alcanzan su madurez enológica óptima.

En cambio, las diferencias que pueden aparecer en la crianza por la variabilidad que ésta ofrece, son mayores que las que tienen lugar en los envejecimientos sin procesos biológicos.

De ahí que en Jerez, sobre todo para la crianza de "flor", esté indicado el sistema de soleras, aunque no fuera más que desde este punto de vista de la uniformidad del proceso, y, por tanto, de la constancia en caracteres del vino criado.

Pero además hay otra consideración, exclusiva de la crianza de flor. Las levaduras que llevan algunos años en velo en un vino, van consumiendo y agotando los micronutrientes (vitaminas, factores de crecimiento, etc.); el vino, con el tiempo, se va empobreciendo, va criando mal. El sistema de soleras permite la incorporación gradual a las escalas más viejas de una proporción dosificada y constante de vinos más jóvenes, lo que se traduce en un abastecimiento medido de micronutrientes para mantener en un grado de actividad adecuada a las levaduras de "flor".

VII.- ESQUEMA GENERAL DE LOS PRINCIPALES VINOS DE JEREZ

Hemos hablado hasta ahora de lo que podemos llamar la crianza de "flor" típica, la que conduce al vino llamado FINO. Debemos añadir que el paso del tiempo tiene también una importancia decisiva para alcanzar la plenitud potencial de estos vinos.

Pero precisamente con el paso de los años el velo empieza a evolucionar y comportarse de manera diferente; la consecuencia práctica es que se van atenuando progresivamente los procesos biológicos y van adquiriendo mayor importancia los fisico-químicos. La dirección de la crianza sufre un cambio que se dirige ahora hacia los vinos que llamamos AMONTILLADOS.

Aún siendo los más originales los vinos de crianza de "flor" típica, la enología jerezana es mucho más que todo eso, de ahí la variedad de tipos y calidades que se obtienen, por lo que será conveniente considerar algunos de los aspectos más interesantes y frecuentes de la técnica enológica jerezana en general, enmarcados en el esquema resumido que figura en el gráfico núm. 2.

La vendimia tiene lugar en Septiembre, la fermentación alcohólica tumultuosa dura unos días y los procesos de acabamiento se prolongan unos meses; a partir de Noviembre ya tenemos velo en todas las botas y en Enero-Marzo se procede a una clasificación organoléptica, bota por bota o recipiente por recipiente, para eliminar los vinos que eventualmente no reúnen las condiciones ideales para la crianza e incluso destinar a OLOROSOS los que se consideran más adecuados por su estilo, "gordura" y vinosidad.

En tiempos que podemos considerar lejanos se solían alcoholizar los vinos a 15-15,5° y esperar a una segunda clasificación, a más de un

año de distancia, para decidir definitivamente el destino de cada vino, a crianza de "flor" o a envejecimiento no biológico; hoy se suelen alcoholizar inmediatamente después de la primera clasificación los finos a 15-15,5º para que se desarrolle la "flor" a este grado alcohólico, llevándose aproximadamente a 18º los que se destinen a OLOROSOS, al objeto de evitar ya todo desarrollo microbiológico.

Los FINOS siguen su proceso normal, anteriormente expuesto, durante un tiempo que puede llegar hasta unos 5-7 años, al cabo de los cua les aparece la atenuación creciente de los procesos biológicos y el vino empieza a desarrollar el carácter AMONTILLADO. No se trata en realidad de un prototipo como el FINO, sino de toda una gama según se representa en el gráfico, gama que va desde vinos relativamente próximos al FINO hasta los sumamente alejados del mismo, que fueron marcados indudablemente por los procesos de crianza de "flor" en sus primeras etapas pero que se pueden lle gar a encontrar tan evolucionados por el paso de los años que so lo se reco nocen participando en un bouquet muy complejo, que en Jerez se suele decir avellanado, pero que nunca alcanza a confundirse con el vino OLOROSO aunque en cierto modo se aproxime. Hay etapas en las que presentan un característico aterciopelado en el paladar. Su grado de alcohol aumenta espontáneamente con el tiempo hasta alcanzar cuando son muy viejos los 22-23º.

Si estos procesos en vez de desarrollarse en Jerez, tienen lugar en Sanlúcar de Barrameda, sobre vino procedente de sus viñas, no se obtiene vino FINO sino MANZANILLA, y en vez de AMONTILLADO, la gama de MANZANILLAS PASADAS, debido a las pequeñas diferencias ecológicas en suelos y microclima y algunas también técnicas, que matizan de forma característica sus caracteres organolépticos.

Siguiendo el esquema fundamental del gráfico 2, al alcoholi

zar los vinos a 18º se interrumpe la vida de la levadura, desaparecen los procesos biológicos y nos queda un vino que envejece en madera pura y simplemente. Adquiere con el tiempo un gran cuerpo y vinosidad, se identifican los derivados de los productos que el vino ha ido extrayendo a la madera, se dice que su aroma recuerda la nuez, y puede llegar a alcanzar con el tiempo un bouquet muy agradable, rico, robusto, vinoso y a veces casi balsámico. En la boca se aprecian todas estas circunstancias, se nota un principio de dulzor (el poeta Julián Pematín lo describió como fugaz impresión de dulcedumbre) que queda pronto inmerso en el sabor complejo, exuberante y rico de matices del vino OLOROSO.

Al no envejecer bajo velo su color es oro oscuro, siendo el del AMONTILLADO intermedio entre el del FINO y el del OLOROSO.

Hasta aquí nos hemos referido a lo principal de la técnica de crianza y envejecimiento que podemos considerar originales de Jerez, que es la que figura en la mitad izquierda del gráfico representada por una especie de triángulo abierto e incompleto.

Pero a lo largo de los años se han desarrollado otras técnicas que podemos considerar complementarias y que colaboran a completar la gran variedad de vinos comerciales que se elaboran en Jerez.

Así por ejemplo, el mosto de uva puede ser calentado inmediatamente de su obtención, a vapor o a fuego directo, hasta caramelización parcial de sus azúcares. Se le adiciona una proporción de mosto fresco para que fermente y obtenemos el llamado VINO DE COLOR que también puede envejecerse y que sirve para ajustar el color final de los vinos medios y oscuros así como sus cualidades organolépticas a los tonos y caracteres deseados.

Si se adiciona alcohol destilado de vino al mosto, después

de iniciada la fermentación, se obtienen vinos dulces naturales que pueden ser objeto de envejecimiento y utilizarse para aportar alguna proporción de azúcar a los vinos "mediums".

Si sometemos la uva a soleo prolongado durante unos 20 días obtenemos una uva semipasificada, cuyo mosto fermenta parcialmente mientras que la levadura lo resiste, o bien se detiene la fermentación en sus últimas fases con eventual adición de alcohol de vino. El producto resultante es el llamado "DULCE PASA" o PEDRO XIMENEZ (por obtenerse en épocas anteriores casi exclusivamente con esta variedad) que es en la práctica un vino complementario, que también puede envejecerse y que se usa en "coupage" con algunos de los ya citados a los que comunica un carácter muy interesante.

VIII.- EL RETO DEL "CABECEO"

Por último y después de citar los principales modelos técnicos que se ponen en juego en Jerez para la crianza y el envejecimiento, digamos que con los vinos así obtenidos, más los dulces, P.X. y vinos de color, Jerez prepara y exporta una variedad interesante de vinos que matizando los nombres clásicos o con los de PALE, DRY, MEDIUM, GOLDEN, CREAM, BROWN, etc., constituyen una proporción importante de su exportación.

Creo que hay mucho que estudiar y escribir en defensa de un elegante y oportuno "coupage", "blend", "cabeceo" (como se dice en Jerez) o "mezcla" de vinos. El "coupage" es una práctica enológica universal, incluso en muchos casos en proporción muy superior a lo que generalmente se dice. Es un hecho cierto que a través de la tradición, la ciencia, la habilidad, el arte, la experiencia y buen gusto de los catadores y hasta el

azar a veces, un "cabeceo" bien efectuado da lugar a vinos de alta calidad y dignidad.

Lo dicho para el jerez es aplicable a otros muchos vinos. La técnica del "cabeceo", "coupage", "blend" o "mezcla", hay que afrontarla con seriedad en la gran bibliografía de vinos, sin temor a enaltecerla en proporción a su utilidad técnica.

IX.- MATERIA PRIMA

Aunque haya quedado para el final, no cabe silenciar que todo lo dicho es posible gracias a una materia prima apta en grado máximo; es decir, una uva y un mosto que producen vino del año realmente modélico en su finura y limpieza organoléptica global; tanto por los extraordinarios suelos de albariza, por las condiciones climatológicas que se dan en los diversos microclimas de la zona que se muestran verdaderamente ideales para estos vinos, por la elección de la variedad PALOMINO idónea en estos suelos y climas, por la viticultura selecta que se ha ido desarrollando en esta región, como por una vinificación sumamente cuidada en sus múltiples aspectos, sin todo lo cual no hubiera sido posible elevar el vino de Jerez a su calidad y prestigio universalmente reconocidos.

X.- COMENTARIOS AL HILO DE LAS JORNADAS

En la conferencia inaugural de nuestras Jornadas el Profesor Iñigo, con sus profundos conocimientos sobre los vinos, adquiridos en gran parte a través de sus múltiples trabajos realizados durante muchos años y, sobre todo, con su vocación y preocupación por la calidad, que sobrepasan el mero conocimiento de los hechos técnicos para adentrarse por terrenos

quasi-filosóficos, nos exponía sus consideraciones personales sobre lo que él llamaba "vino ecológico" y "vino tecnológico".

Pienso (y he oído varios comentarios coincidentes) que sus palabras se prestan a ser interpretadas en el sentido de que los contrapone, y, en este enfrentamiento, se muestra claramente partidario del primero y crítico hacia el segundo.

En fecha reciente se ha propuesto denominar "vinos de tecnología" a los producidos en zonas vitivinícolas relativamente nuevas, obtenidos poniendo en juego una excelente selección de cepas y unas técnicas sofisticadas de vinificación; a diferencia de los llamados "vinos de tradición", consagrados por la misma, de los que cabe citar como ejemplos paradigmáticos a los vinos con Denominación de Origen.

Creo preciso decir, en honor a la verdad, que en estas modernas zonas productoras de vinos se han realizado estudios vitícolas y enológicos ejemplares que han dado lugar a progresos indiscutibles, y se han alumbrado conocimientos de validez general que enriquecen nuestro acervo científico y técnico.

Entiendo que la interpretación que da Iñigo a lo que denomina "vino tecnológico" pudiera ser una extensión o generalización de lo que representan (desde el punto de vista técnico) los "vinos de tecnología" citados. Pero si "vino ecológico" es, adoptando el ejemplo a que ha hecho referencia, el fruto de un largo y complejo estudio de microbiología enológica, para conseguir vinos óptimos, sin adición de anhídrido sulfuroso, mediante una fermentación vínica con relevos previstos (programados con medios técnicos) de levaduras de diferentes géneros y especies, las demostradas idóneas para cada caso y estadio fermentativo, resulta evidente que a ese vino habría que considerarle como un claro ejemplo de alta tecnología.

El vino ni es ni puede ser un producto directo de la naturaleza; el líquido (?) que por rotura espontánea de las uvas se produciría en un proceso estrictamente ecológico, en el que para nada interviniera el hombre, no sería vino, sino vinagre en el mejor de los casos, ya que el final de la cadena de interpenetrados procesos biológicos degradativos que se implantaría me resulta indefinible.

Siempre he pensado que el vino debe ser lo más natural, de mejor calidad y más higiénico que seamos capaces de hacer. Pero siempre será un resultado de la técnica, puesto que para su obtención a partir de la uva es indispensable un repertorio de actos técnicos que ha de realizar el hombre. Y si estos actos técnicos tienen una base científica, como suele suceder hoy, tendremos que admitir que trabajamos en general con procesos tecnológicos.

Por cierto que, como ha escrito Michel de Guerry, "la era tecnológica del vino significa que el hombre no es ya mero traductor de los dones de la naturaleza, sino que alcanza la categoría de creador a partir de la uva como materia prima, imprimiéndole su voluntad".

De mi reciente comunicación, dedicada a la Academia Italiana de la Vid y del Vino, quisiera sacar alguna consecuencia relacionada con la frase quizá más sonora del Prof. Iñigo que repitió con especial énfasis: "el vino es un mensaje de la tierra". Me parece que hay mucho contenido críptico en estas palabras. Nadie discutirá que en el vino hay mensaje de la tierra (los libros de enología lo ilustran), pero el vino es mucho más y, en todo caso, tal mensaje es cifrado.

Nuestros antepasados, durante muchos siglos, trataron de avanzar prácticamente por entre los enigmas o misterios que la vitivinicultura les ofrecía empleando en grado máximo su observación, reflexión,

experiencia, intuición, buen gusto personal, el famoso e histórico ensayo y error, etc., y fueron transmitiendo de unas a otras generaciones las ideas básicas empíricas adquiridas que los técnicos artesanos aplicaron lo mejor que pudieron a seleccionar suelos y vides, cultivar éstas, elaborar vinos, conservarlos y envejecerlos. Y por este dilatado y laborioso camino llegaron a los grandes vinos tradicionales que hoy disfrutamos, enaltecemos y estudiamos. Por ejemplo, a partir de una variedad única de uva (Palomino), cultivada en un marco de tierras relativamente homogéneas (variantes de albarizas), con climas y microclimas aproximados, obtuvieron vinos muy diferentes de gran originalidad y calidad, precisamente porque desarrollaron procesos distintos y aptos para cada caso, según acabamos de exponer.

Es indudable que en el vino hay caracteres enviados hasta el mismo por la tierra. ¿Cómo no, si en ella hunde sus profundas raíces la vid que nos proporciona la uva?. Pero si llamamos mensaje a lo que de peculiar cada tierra es capaz de transmitir a la uva y ha de aprovechar la enología, hemos de darle una valoración parcial frente a ese conjunto complejo que es el vino y, desde luego, adjetivarle de cifrado. Descifrarle hoy es misión de la ciencia, mientras aplicar ésta en general a todo lo relacionado con la elaboración de vinos corresponde a la tecnología, por mucho que una y otra deban - y deben - respetar y usufructuar a un tiempo los valores ecológicos.





